

UNTERSUCHUNGEN AM
ZWERGSCHWEIN ÜBER INITIALE
VERÄNDERUNGEN VON
ARTERIENWAND, BLUTRHEOLOGIE
UND THROMBOZYTENFUNKTION NACH
ZIGARETTENRAUCHINHALATION

- Untersuchungen unter Einsatz der
Maskenatmung, einer vollautomatischen
Rauchmaschine, der Transmissionselektronen-
mikroskopie und einer strengen Blindauswertung
der rasterelektronenmikroskopischen
Gefäßaufnahmen -

Irmgard Pfaffinger

*Dis.
München
1985*

Aus dem Institut und der Poliklinik für Arbeitsmedizin
der Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. G. Fruhmann

UNTERSUCHUNGEN AM ZWERGSCHWEIN ÜBER INITIALE VERÄNDERUNGEN
VON ARTERIENWAND, BLUTRHEOLOGIE UND THROMBOZYTENFUNKTION
NACH ZIGARETTENRAUCHINHALATION

- Untersuchungen unter Einsatz der Maskenatmung, einer voll-
automatischen Rauchmaschine, der Transmissionselektronen-
mikroskopie und einer strengen Blindauswertung der raster-
elektronenmikroskopischen Gefäßaufnahmen -

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Irmgard Pfaffinger

aus

Passau

Jahr

1985

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. M. Marshall

Mitberichterstatter: Prof. Dr. G. Fruhmann

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 21.11.1985

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. LITERATURÜBERBLICK	3
2.1. Epidemiologie und Risikofaktoren	3
2.1.1. Hypercholesterinämie bzw. -triglyzerid- ämie	5
2.1.2. Hypertonie	5
2.1.3. Diabetes mellitus	6
2.1.4. Hyperurikämie	7
2.1.5. Inhalierendes Zigarettenrauchen	7
2.2. Bestandteile im Zigarettenrauch	11
2.2.1. Nikotin	12
2.2.2. Kohlenmonoxid	16
2.3. Tiermodelle in der Arteriosklerose- forschung	23
2.3.1. Kaninchen	23
2.3.2. Ratten	25
2.3.3. Vögel	26
2.3.4. Primaten	27
2.3.5. Schweine	29
2.3.6. Miniaturschweine	31
2.4. Das pathomorphologische Bild der Arteriosklerose	32

	Seite
2.5. Aktuelle Theorien über die Pathogenese der Arteriosklerose	37
2.5.1. Theorie der primären Endothelschädigung	38
2.5.2. Lipidtheorie	40
2.5.3. Hämodynamische Theorie	43
2.5.4. Theorie der unspezifischen Mesenchymreaktion	45
2.5.5. Virale Theorie	46
2.5.6. Monoklonale Theorie	47
2.5.7. Immunogenesetheorie	49
2.5.8. Theorie der Proliferation glatter Muskelzellen	50
2.5.9. Prostaglandintheorie	53
2.5.10. Abscheidungstheorien	57
2.5.10.1. Fibrin	57
2.5.10.2. Thrombozyten = Eigene Theorie	58
2.6. Spezielle Fragestellung der vorliegenden Arbeit im Rahmen der früheren Versuche der eigenen Arbeitsgruppe	65
2.6.1. Frühere Versuche	65
2.6.2. Eigene Versuche	69
3. MATERIAL UND METHODIK	71
3.1. Versuchstiere	71
3.2. Operationen	72
3.2.1. Instrumentarium	72
3.2.2. Narkose	72
3.2.3. Implantation von Venenkathetern	73

	Seite
3.2.4. Postoperative Versorgung	74
3.2.5. Gefäßentnahme und Vitalfixierung	75
3.3. Versuchsaufbau	78
3.4. Bestimmungsmethoden	79
3.4.1. Hämorheologische Parameter	79
3.4.1.1. Hämatokrit	79
3.4.1.2. Fibrinogen	80
3.4.1.3. Viskosität	80
3.4.1.4. Erythrozytenflexibilität	81
3.4.2. Thrombozytentests	81
3.4.2.1. Thrombozytenzahl	81
3.4.2.2. Thrombozytenaggregation	81
3.4.2.3. Thrombozytenadhäsion	83
3.4.3. Kohlenmonoxid	85
3.5. Mikroskopie	86
3.5.1. Rasterelektronenmikroskopie	86
3.5.2. Transmissionselektronenmikroskopie	89
4. ERGEBNISSE	92
4.1. Hämorheologische Parameter	92
4.1.1. Hämatokrit	93
4.1.2. Fibrinogen	94
4.1.3. Viskosität	96
4.1.4. Erythrozytenflexibilität	98
4.2. Thrombozytentests	100
4.2.1. Thrombozytenzahl	100
4.2.2. Thrombozytenaggregation	101

	Seite
4.2.3. Thrombozytenadhäsion	103
4.3. Kohlenmonoxid	104
4.4. Mikroskopie	104
4.4.1. Rasterelektronenmikroskopie	104
4.4.2. Transmissionselektronenmikroskopie	113
5. DISKUSSION	115
6. ZUSAMMENFASSUNG	125
7. LITERATURVERZEICHNIS	127
8. LEBENSLAUF	164

Zusammenfassung von Abbildungen und Tabellen:

Abb. 1: Risikofaktoren und ihre topographische Bevorzugung	4
Abb. 2: Zahl der Herzinfarkte in Relation zur Rauchgewohnheit	10
Abb. 3: Meßaufbau für den Fasertest (nach Jacobi)	84
Abb. 4: Atherogeneseschema	123
Tab. 1: Inhaltsstoffe im Zigarettenrauch	11
Tab. 2: Wesentliche bislang erprobte Angiopathiemodelle	66
Tab. 3: Beurteilungskriterien für die Gefäßentnahmen	76
Tab. 4: Stufeneinteilung und Beurteilungskriterien für den PAT I nach Breddin	82
Tab. 5: Beurteilungsschema für die Auswertung der rem Aufnahmen	90-91
Tab. 6: Hämatokrit	93
Tab. 7: Fibrinogen	94
Tab. 8: Viskosität	96-97
Tab. 9: Erythrozytenflexibilität bzw. -filterabilität	98
Tab. 10: Thrombozytenzahl	100
Tab. 11: Thrombozytenaggregation	101-102
Tab. 12: Fasertest	103
Tab. 13: Rem Beurteilung: Endothel	106
Tab. 14: Rem Beurteilung: Fibrinauflagerung	107
Tab. 15: Rem Beurteilung: Thrombozyten	108
Tab. 16: Rem Beurteilung: monozytäre Elemente	109
Tab. 17: Tem Befunde	113

1. EINLEITUNG

Die Zahl der Menschen, die an arteriosklerotischen Gefäßveränderungen - sei es im Bereich der Koronar-, der Hirn- oder der peripheren Arterien - leiden, hat vor allem in den hochzivilisierten Ländern in den letzten Jahrzehnten erschreckend zugenommen. Neben der veränderten Altersstruktur der Bevölkerung wird die Hauptursache in den modernen Lebens- und Ernährungsbedingungen mit dem vermehrten Auftreten der sogenannten Risikofaktoren der Arteriosklerose gesehen. Nach prospektiven Studien ist bei jedem 10. Mann und bei jeder 20. Frau im Alter von 30 bis 62 Jahren mit ischämischen Herzerkrankungen zu rechnen. Die Arteriosklerose mit ihren Komplikationen, allen voran dem Myokardinfarkt, ist in der westlichen Welt zur häufigsten Todesursache geworden. Intensive Forschungen werden derzeit unternommen, und viele Theorien wurden aufgestellt, um die Pathogenese der obliterierenden Angiopathien erklären zu können.

Epidemiologische Studien deckten die statistischen Zusammenhänge zwischen den "Risikofaktoren" und der Prävalenz und/oder Inzidenz der arteriellen Gefäßerkrankungen auf. Die Klärung möglicher pathophysiologischer und biochemischer Wirkungsmechanismen dieser Risikofaktoren und insbesondere die ganz initialen Vorgänge in der Atherogenese sind aber noch weitgehend ungeklärt.

Da der Mensch als eigentlich interessierendes Objekt für diese Forschungen weitgehend ausscheidet, muß an seine Stelle vorwiegend das Tiermodell treten. Nachdem sowohl die formale als auch die kausale Pathogenese der

Arteriosklerose beim Schwein der beim Menschen außerordentlich ähnlich ist, verwendet unsere Arbeitsgruppe seit Jahren das Hanford-Miniaturschwein als Versuchstier.

Die dieser Arbeit zugrundeliegende Arbeitshypothese sieht in einer Funktionssteigerung der Thrombozyten und einer Alteration des Endothels mit konsekutiver Störung der Interaktion zwischen Gefäßwand und strömendem Blut einen wesentlichen Mechanismus in der initialen Atherogenese, was durch zahlreiche Untersuchungen am Hanford-Miniaturschwein gezeigt werden konnte und inzwischen auch von anderen Arbeitsgruppen bestätigt wurde.

Die im folgenden beschriebenen Experimente sollten neben anderem untersuchen, welche initialsten Veränderungen von Arterienwand, Blutrheologie und Thrombozytenfunktion nach einmaliger 4-stündiger Zigarettenrauchexposition auftreten (siehe auch 2.6.2.).

2. LITERATURÜBERBLICK

2.1. Epidemiologie und Risikofaktoren

Ein Risikofaktor ist ein Faktor, der statistisch gesehen mit dem späteren Auftreten oder dem Vorhandensein einer Krankheit korreliert, ohne jedoch deren Ursache sein zu müssen. Zahlreiche epidemiologische Studien identifizierten in den letzten Jahren eine ganze Reihe von Risikofaktoren, die mit einer hohen Prävalenz oder Inzidenz an Arteriosklerose einhergehen.

Schettler (232) differenzierte zwischen Risikofaktoren erster und zweiter Ordnung:

- I. Hypercholesterinämie
 - inhalierendes Zigarettenrauchen
 - Hypertonie
- II. Diabetes mellitus
 - Hypertriglyzeridämie
 - Hyperurikämie
 - körperliche Inaktivität

Darüberhinaus werden noch sogenannte nicht beeinflussbare Risikofaktoren - wie Lebensalter, Geschlecht, Erbgut, Konstitution - und andere Arteriosklerose - begünstigende Faktoren diskutiert. Zu letzteren zählt man arterielle Thrombosen, Hyperkoagulabilitätsstörungen, Polyzythämie, reaktive Polyglobulie, entzündliche Grunderkrankungen, Immunprozesse, endokrine Störungen, virale und bakterielle Infekte.

Je nach Manifestationsort der Arteriosklerose (z.B. Koronar-, Hirn- oder periphere Arterien) finden die ein-

zelenen Risikofaktoren ihre bevorzugte klinische Entsprechung (siehe Abbildung 1)

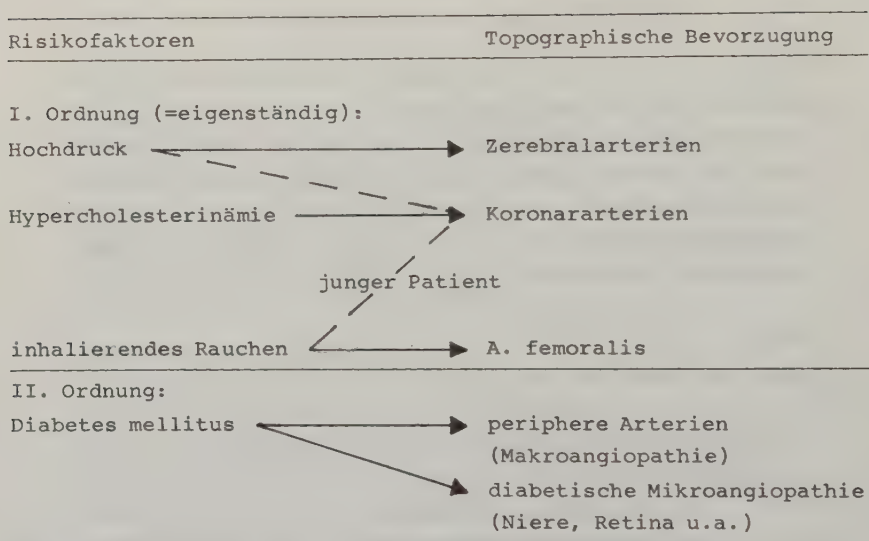


Abb. 1: Risikofaktoren und ihre topographische Bevorzugung (nach 152)

Bei einer Kombination von zwei oder gar mehr Risikofaktoren steigt das Risiko, an einem arteriellen Verschlussleiden zu erkranken, nicht nur additiv sondern überadditiv an (112).

Selten kommen jedoch auch Erkrankungsfälle an Arteriosklerose ohne vorher bestehende - bekannte - Risikofaktoren vor.

Im folgenden soll kurz auf die wichtigsten Risikofaktoren, insbesondere auf das Zigarettenrauchen, eingegangen werden.

2.1.1. Hypercholesterinämie bzw. -triglyzeridämie

Die Hypercholesterinämie steht in der Rangordnung der Risikofaktoren für Koronarsklerose an erster Stelle. Patienten mit einer Hypercholesterinämie (mehr als 250 mg/100 ml Δ 6,5 mmol/l) haben innerhalb von 10 Jahren ein Infarktrisiko von 10%.

Zwischen kardiovaskulärem Risiko und Blutfetterhöhung besteht also eine enge, direkte statistische (möglicherweise sogar eine exponentielle) Beziehung. Gemäß der Framingham-Studie (117) steigt das Risiko für eine Koronarerkrankung bei Serumcholesterinwerten oberhalb 300 mg/100 ml auf nahezu das Fünffache an. Ebenso ist bei der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit die Hypercholesterinämie zweimal so häufig wie in der nicht selektierten Gesamtbevölkerung (127), wobei allerdings auch erhebliche Altersunterschiede beachtet werden müssen.

Bis zu zwei Drittel des Serumcholesterins werden in der LDL-Fraktion (Lipoproteine niedriger Dichte) transportiert, welche als die atherogene Lipoproteinfraktion anzusehen ist. Da die triglyzeridreichen VLDL (Lipoproteine sehr niedriger Dichte) negativ mit der HDL-Konzentration (Lipoproteine hoher Dichte) korrelieren und LDL und VLDL intravaskulär gebildet werden, sind sie ebenfalls als Risikofaktor anzusehen (34, 170).

2.1.2. Hypertonie

Der Bluthochdruck ist in den westlichen Wohlstandsgesellschaften von erheblicher qualitativer und quantitativer Bedeutung. Blutdruckwerte von 160/90 mmHg oder

darüber werden bei 5 bis 10% aller Menschen gefunden, jenseits des 40. Lebensjahres bei fast 20%. Für apoplektische Insulte ist die Hypertonie der entscheidende Risikofaktor. Unbehandelte Hypertoniker erleiden innerhalb von 5 Jahren zu 60% kardiovaskuläre Komplikationen. Bei schwerer oder maligner Hypertonie liegt die 5-Jahres-Überlebensrate unter 5%. Für den Risikofaktor Hypertonie gibt es Befunde, daß die konsequente Behandlung präventiv wirksam sein kann, was für kausalpathogenetische Zusammenhänge spräche. Die erfolgreiche Behandlung soll die kardiovaskuläre Komplikationsrate innerhalb von 5 Jahren von 60% auf 18% senken (61), ohne daß daraus aber ohne weiteres auf eine Beeinflussung der Atherogenese geschlossen werden darf. Die Rolle des Blutdrucks für die Entstehung der Arteriosklerose wird eindrucksvoll bei Patienten mit Aortenisthmusstenose demonstriert. Herzwärts von der Stenose entwickelt sich eine hochgradige Arteriosklerose, peripher davon fehlt sie, mit Ausnahme der unmittelbar auf die Stenose folgenden Erweiterungszone (poststenotische Dilatation).

2.1.3. Diabetes mellitus

Starben vor der Insulinära mehr als die Hälfte der Diabetiker im Coma diabeticum, so wird heute das Schicksal der Diabetiker vorwiegend von Entwicklung und Ausmaß der diabetischen Spätkomplikationen bestimmt: Man unterscheidet (neben der diabetischen Neuropathie) zwei prinzipiell verschiedene Manifestationen am Gefäßsystem, die Makroangiopathie bei Diabetes und die relativ diabetesspezifische Mikroangiopathie.

Die Todesursachenstatistik von 5.009 Diabetikern der

Joslin-Clinic Boston zeigt, daß 76,6% aller Diabetiker an Gefäßerkrankungen und davon wiederum 53,2% an koronaren und 12,0% an zerebrovaskulären Gefäßerkrankungen verstarben (144). Die Mortalität an Gefäßerkrankungen ist bei Diabetikern - verglichen mit derjenigen der übrigen Bevölkerung - 2,5 bis 3,5 mal höher (144).

2.1.4. Hyperurikämie

Sowohl die Hyperurikämie als auch die Gicht korrelieren offensichtlich mit dem Auftreten der Angina pectoris, jedoch nicht mit einer Zunahme der prämaternen Arteriosklerose mit Ausnahme der Nierenarterien. Die koronare Herzkrankheit ist offenbar bei Patienten mit Hyperurikämie nicht gehäuft, es sei denn, es kommen noch andere Risikofaktoren wie Hypertonie oder Hyperlipoproteinämie dazu ("Risikoindikator").

Die Gicht kann Frühläsionen an den Nierenarterien und -arteriolen und eine maligne Hypertonie begünstigen. Sie nimmt als pathogenetischer Faktor eine Sonderstellung ein (233). Hyperurikämie und Gicht werden gelegentlich auch als Risikofaktoren III. Ordnung bezeichnet (oder als "Risikoindikator" - s.o.).

2.1.5. Inhalierendes Zigarettenrauchen

Inhalierendes Zigarettenrauchen gehört neben Hypertonie und Hypercholesterinämie zu den Angiopathie-Risikofaktoren I. Ordnung. Es besitzt ein hohes Maß an Eigenständigkeit (188, 257) und korreliert streng mit der Zahl der gerauchten Zigaretten ("Dosis-Wirkungs-Beziehung" (252)).

Zur Zeit rauchen ca. 71% der männlichen und ca. 35% der weiblichen erwachsenen Weltbevölkerung (60).

In Westdeutschland rauchen nach Untersuchungen der Zigarettenindustrie von 1973 53% der Männer und 26% der Frauen zwischen 16 und 65 Jahren regelmäßig Zigaretten. Das sind 14,4 Millionen Raucher mit einem durchschnittlichen Zigarettenkonsum von 17 pro Tag. 16% der Raucher sind starke Raucher (23 und mehr Zigaretten pro Tag); auf sie entfallen 30% des gesamten Zigarettenkonsums. Die Zahl der rauchenden Frauen ist stark im Zunehmen begriffen. Da das Rauchen als der wichtigste Risikofaktor für den Myokardinfarkt beim jungen Menschen und insbesondere auch bei den Frauen gilt, sei noch besonders auf die Zahlen bei den Jugendlichen hingewiesen. Demnach sind von den 16- bis 24-jährigen bereits 24% regelmäßige Raucher.

Bei älteren Personen ist die enge Korrelation zwischen Zigarettenrauchen und pathologischen Veränderungen der Arteria femoralis typisch (188). Nahezu alle Krankenhauspatienten mit peripherer arterieller Verschlusskrankheit sind oder waren noch bis vor kurzem regelmäßige Zigarettenraucher. Etwa 20000 Beinamputationen pro Jahr sind in Westdeutschland auf das Rauchen zurückzuführen.

In 20-25% aller Fälle ist der plötzliche Tod die erste Manifestation einer koronaren Herzkrankheit. Mehrere Studien zeigen, daß starkes Zigarettenrauchen (d.h. mehr als 20 Zigaretten pro Tag) die Wahrscheinlichkeit, einen plötzlichen Herztod zu erleiden, sowohl für Männer als auch für Frauen erhöht (86, 238).

Nach Wald et al. (257) ist beim Menschen die Infarkthäufigkeit bei CO-Hb-Werten über 5% gegenüber Werten unter 3% mehr als verdreifacht.

Die relative Steigerung des Arteriosklerosisrisikos durch Kohlenmonoxid ist unabhängig von Alter und Geschlecht (257).

Auch die vielzitierte, longitudinale Framingham-Longzeit-Studie zeigt, daß das Herzinfarktrisiko mit der Zahl der inhalierten Zigaretten ansteigt (52, 118). Die "Tiefinhalierer" haben ebenfalls ein erhöhtes Risiko. Exraucher (nach 8-10 Jahren), Pfeifen- und Zigarrenraucher - nur wenn sie nicht inhalieren - haben etwa das gleiche Risiko, einen Herzinfarkt zu erleiden, wie Nichtraucher. D.h., nicht nur allein die Quantität des aufgenommenen Rauches ist entscheidend für das Angiopathierisiko, sondern auch die Qualität (Bedeutung des Kohlenmonoxids?) (Abbildung 2).

Die oben erwähnten Untersuchungen stellen nur einen Bruchteil der in den letzten Jahren durchgeführten Studien, welche deutlich den epidemiologischen Zusammenhang zwischen Rauchen und Arteriosklerose gezeigt haben, dar.

So kann an der kausalen Wirksamkeit des Zigarettenrauchens heute kaum noch ein Zweifel bestehen, selbst wenn die entscheidend schädigende Substanz (oder Substanzen) und eventuelle Interaktionen mit weiteren Risikofaktoren noch Gegenstand der Diskussion sind.

Dabei ist Zigarettenrauchen der einzige Risikofaktor 1. Ordnung, der prinzipiell jederzeit einfach und vollständig ohne medikamentösen Eingriff zu eliminieren wäre.

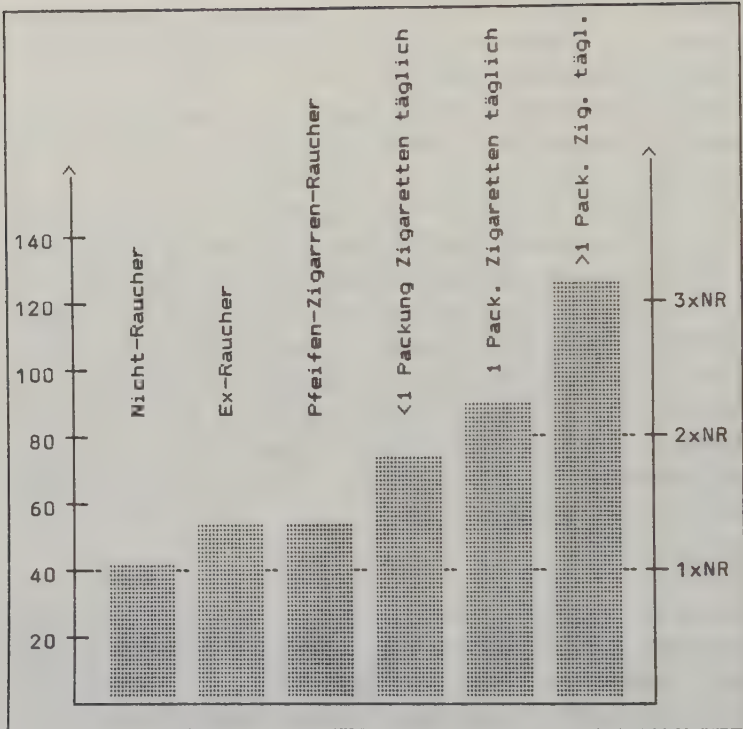


Abb. 2: Zahl der Herzinfarkte innerhalb von 10 Jahren auf jeweils 1000 Männer im Alter von 30 bis 59 Jahren in Relation zur Rauchgewohnheit (nach 239 geändert).

2.2. Bestandteile im Zigarettenrauch

Im Zigarettenrauch unterscheidet man eine Partikelphase und eine Gasphase. Von den vermutlich ca. 3000 Substanzen im Tabakrauch sind bisher nur relativ wenige chemisch exakt identifiziert worden (Tabelle 1).

Tabelle 1: Einige wichtige Inhaltsstoffe im Zigarettenrauch (nach 234):

Partikelphase: Aliphatische und aromatische Kohlenwasserstoffe

Alkohole (auch Methanol)

Ester, Säuren, Basen

Karboxylverbindungen

Nikotin und andere Alkaloide

Nitrosamine

Phenole

Sterine

Gasphase:

anorganisch: Ammoniak

Blausäure

Kohlenoxid

Schwefelwasserstoff

Stickoxide (NO, NO₂)

organisch: niedere Aldehyde

niedere aliphatische Kohlenwasserstoffe

niedere Alkohole

niedere Ester

niedere Ketone etc.

Wegen ihrer karzinogenen Wirkung sind besonders das Benzpyren, die Nitrosamine und einige Schwermetalle gut untersucht. Im Zusammenhang 'Zigarettenrauch und Risikofaktoren' für die Arterioskleroseentstehung wird neben dem Nikotin besonders das Kohlenmonoxid diskutiert. Wobei nicht verschwiegen werden darf, daß es noch völlig unklar ist, welche weiteren Inhaltsstoffe des Zigarettenrauches alleine bzw. in Kombination für die schädigende Wirkung, im besonderen im Hinblick auf die Atherogenese, verantwortlich sind.

2.2.1. Nikotin

Im folgenden sollen einige Wirkungen, die hauptsächlich dem Nikotin zugeschrieben werden, diskutiert werden.

Nikotin depolarisiert wie Acetylcholin die postsynaptische Membran in den sympathischen und parasympathischen Ganglien. Dies führt zu einer ganglionären Erregung. Chromaffine Zellen im Nebennierenmark und anderswo im Körper werden ebenfalls durch Nikotin stimuliert. Die Folge ist eine Freisetzung von Adrenalin, Noradrenalin und Acetylcholin.

Bei längerer Einwirkung von Nikotin auf die genannten Strukturen kommt es zu einer anhaltenden Depolarisation und damit zu einer Blockade der ganglionären Erregungsübertragung (die Blockade kann die Depolarisation überdauern).

Nikotin stimuliert die Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse und bewirkt eine Freisetzung von 11-Hydroxycorticosteroiden (191).

Die Nikotinwirkungen auf Herz und Kreislauf sind komplex und nicht nur von der Dosis, sondern auch von der

jeweiligen sympathischen und parasympathischen Aktivität zur Zeit der Einwirkung abhängig. Herzfrequenz und Kontraktionskraft können vermindert sein durch eine Erregung der Vagusganglien oder gesteigert durch sympathische Stimulation. Die Weite der Blutgefäße wird fast ausschließlich vom sympathischen Nervensystem kontrolliert. Nikotin verursacht fast immer einen Blutdruckanstieg durch ganglionäre Stimulation der vasomotorischen Nerven, sowie durch Freisetzung von Brenzkatechinaminen im Nebennierenmark (191).

Nikotin depolarisiert auch die adrenergen Nervenendigungen und veranlaßt sie zur Freisetzung von Noradrenalin. Die Tatsache, daß Raucher im allgemeinen einen höheren Grundumsatz haben, und daß sie ohne zusätzliche Energieaufnahme deutlich an Gewicht zunehmen, wenn sie das Rauchen aufgeben, wird auf die dauernde Stimulation des sympatho-adrenalen Systems durch Nikotin und seine glykogenolytische und lipolytische Wirkung zurückgeführt (191).

Auf die vielen anderen pharmakologischen Wirkungen des Nikotins, insbesondere auf das ZNS, soll in diesem Zusammenhang nicht eingegangen werden.

Es darf heute als gesichert gelten, daß die akuten hämodynamischen und Stoffwechseleffekte des Zigarettenrauchens ganz vorwiegend Nikotinwirkungen sind (191).

Praktisch unmittelbar nach Nikotingenuß steigen die Herzfrequenz, der systemarterielle Druck und das Herzschlagvolumen an. Die erhöhte Inotropie und Chronotropie bedingen einen gesteigerten Sauerstoffverbrauch des Herzens, der beim Gesunden leicht durch einen vermehrten koronaren Blutfluß kompensiert werden kann. Bei bereits vorgeschädigten, eingeengten Koronararterien ist

diese Anpassung nicht möglich, und eine einzige Zigarette kann, ebenso wie leichte Arbeit, die Sauerstoffbilanz des Herzens ins Defizit verschieben (95, 121), wobei sich die Kohlenmonoxid-Aufnahme zusätzlich verschlimmernd auswirkt. Nikotin selbst hat keine konstriktorische Wirkung auf die Koronarien.

Schrader und Gerlach führen dagegen die Steigerung von Herzfrequenz, Kontraktilität und myokardialen Sauerstoffverbrauch nicht primär auf eine Eigenwirkung von Nikotin zurück, sondern auf Sekundärreaktionen als Folge einer transitorischen Freisetzung von Katecholaminen (251).

Spoehr et al. haben die Dopamin-Beta-Hydroxylase-(DBH)-Aktivität als Index für sympathische Aktivität gewählt und fanden zehn Minuten nach der maximalen Nikotinkonzentration im Plasma auch eine maximale DBH-Aktivität (Rauchversuche am Menschen); ebenso verhielten sich Cortisol, Blutzucker und freie Fettsäuren. Gleichzeitig mit dem maximalen Nikotinspiegel fanden sich die Spitzenwerte für Blutdruck, Herzfrequenz und Laktat. Unbeeinflusst blieben die untersuchten Parameter vom COHb mit Spiegeln bis zu $5,6 \pm 0,5\%$ (229).

Das Rauchen erhöht die Konzentration an freien Fettsäuren im Blut, was auf die nikotinvermittelte Katecholaminfreisetzung zurückgeführt wird. Beim Rauchen bleiben die mobilisierten Fettsäuren im Blut, bis sie in der Leber zu Triglyzeriden auf- und umgebaut werden und als Lipoproteine im Blut erscheinen. Diese Veränderungen im Fettstoffwechsel sind nach dem Rauchen von nikotinfreien Zigaretten nicht beobachtet worden (120). Die Hypertriglyzeridämie (speziell die Erhöhung der VLDL-Frak-

tion) gilt bekanntlich als einer der Risikofaktoren für die Entstehung einer Arteriosklerose.

Werle und Schievelbein untersuchten die Wirkung von Nikotin auf die Plättchenaggregation in vitro und fanden eine induzierte Thrombozytenaggregation, was auf Änderungen der Membranpermeabilität der Plättchen zurückgeführt wurde. Allerdings waren sehr große Nikotinmengen dazu nötig. Bei gleichzeitigem Zusatz von Nikotin und ADP war die aggregationsauslösende Wirkung der einen Substanz durch die andere verstärkt (72, 263).

Levine machte vergleichende Rauchversuche mit einer nikotinfreien Zigarette. Nach dem Rauchen der nikotinfreien Zigarette kam es zu keiner gesteigerten Plättchenaggregation, wohl aber nach einer normalen Tabakzigarette. Dieses Ergebnis weist stark auf eine Nikotinwirkung hin und könnte über die durch Nikotin induzierbare Katecholaminausschüttung erklärt werden, da ja Adrenalin ein ausgesprochen aggregationsfördernder Faktor ist (134) (nach Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe aber nur in sehr hohen Konzentrationen).

Marshall et al. fanden bei Untersuchungen am Hanford-Miniaturschwein eine Zunahme der Plättchenaggregation nach einer i.v.-Injektion von durchschnittlich 0,05 mg Nikotin/kg Körpergewicht, was etwa der Nikotinmenge entspricht, die ein starker Raucher pro Tag zu sich nimmt. Sowohl Blutviskosität (um 9%) als auch Plasmaviskosität (um 3,3%) und Hämatokrit stiegen signifikant an. Der relative Anstieg der Blutviskosität war umso ausgeprägter, je niedriger die Scherate war, was auf einen Einfluß des Nikotins auf die dynamische Aggregation der Erythrozyten schließen läßt (154, 156).

Wenn auch Nikotin allein nicht in der Lage zu sein scheint, eine Arteriosklerose hervorzurufen (235, 259), so zeigen die oben angeführten Untersuchungen dennoch, daß Nikotin in vivo deutliche Auswirkungen auf das rheologische Verhalten des Blutes nehmen kann, die im Rahmen einer Arteriosklerose Wegbereiter schwerwiegender klinischer Komplikationen sein können (8, 211).

2.2.2. Kohlenmonoxid

Kohlenmonoxid ist ein farb-, geruch- und geschmackloses Gas, mit einer Dichte etwa gleich der von Luft. Es entsteht bei der unvollständigen Verbrennung kohlenstoffhaltiger Verbindungen.

Als Verbrennungsprodukt kann Kohlenmonoxid praktisch überall vorkommen. Eine berufliche Gefährdung entsteht bei allen Beschäftigten, die an Verbrennungsanlagen arbeiten, z.B. an Hochöfen, in Kokereien, Gaswerken und Gießereien, an Generatoren und in Ziegeleien, etc. Bergarbeiter unter Tage können bei Grubenbränden und -explosionen, sowie bei Sprengungen stark kohlenmonoxidhaltige Luft einatmen. Installateure und Rohrleger sind bzw. waren durch kohlenmonoxidhaltiges Stadtgas (bis 17%), Feuerwehrleute durch Rauchgase gefährdet.

Eine der Hauptentstehungsquellen für Kohlenmonoxid ist der Benzin- und der Dieselmotor. Die Abgase der Benzinmotoren enthalten zwischen zwei und vier Volumenprozent Kohlenmonoxid; bei sehr schlechten Betriebsbedingungen bis zu 13 Vol-%. Die CO-Abgabe von Dieselmotoren liegt etwa um eine Zehnerpotenz niedriger als die von Benzinmotoren, kann aber bei Vollast zunehmen.

Neben der Verunreinigung der Großstadtluft mit dem Koh-

lenmonoxid der Autoabgase setzt sich ein Raucher nicht unbeträchtlichen zusätzlichen Mengen Kohlenmonoxid durch das inhalierende Zigarettenrauchen aus. Der CO-Gehalt des Zigarettenrauchs steigt von $2,0 \pm 1$ Vol-% beim Anrauchen bis $5,0 \pm 1$ Vol-% ($\hat{=}$ 50000 ppm) nach Abrauchen von 6 cm einer Zigarette an (84). Bei CO-freier Atemluft erreicht ein Raucher von 35-40 Zigaretten pro Tag eine alveoläre CO-Konzentration von rund 0,005 Vol-% $\hat{=}$ 50 ppm (84), was der früheren (jetzt 30 ppm) maximal zugelassenen Arbeitsplatzkonzentration (MAK-Wert) entspricht.

Durch den Hämoglobinabbau kommt es zusätzlich zu einer endogenen CO-Bildung, die beim Menschen physiologischerweise zu einer Hb-Sättigung mit CO von 0,5 - 0,8% führt. Bei einem vermehrten Hämoglobinumsatz, z.B. bei hämolytischer Anämie oder Sichelzellanämie, können endogen bereits COHb-Werte bis 5% auftreten.

Kohlenmonoxid wird ausschließlich über die Lunge aufgenommen. Es diffundiert aus den Alveolen ins Blutplasma, permeiert die Erythrozytenmembran, ohne sie zu schädigen und blockiert im Hämoglobin das zweiwertige Eisen, indem es den Sauerstoff verdrängt. Da die Bindung von CO an das Hb-Molekül etwa 10mal langsamer eintritt als bei O₂, die Dissoziation von O₂ aber rund 2400 mal schneller als die von CO erfolgt, resultiert eine ca. 240fach stärkere Affinität des CO zu Hb. Das hierbei entstehende COHb ist meßbar und spiegelt die subakute bis chronische CO-Belastung des Organismus zuverlässig wieder - jedoch nicht unbedingt die ganz akute. Gemäß dem Haldane-Effekt binden die noch verbliebenen Zentralatome des Hämoglobinmoleküls den Sauerstoff umso stärker, je mehr Eisenatome mit CO beladen sind. Die HbO₂-Dissoziationskurve wird demnach nach links verschoben; d.h., bei steigender

COHb-Konzentration ist nicht nur die Sauerstofftransportkapazität vermindert, sondern auch die Sauerstoffabgabe am Ort des Bedarfs erschwert. Die Folge ist in beiden Fällen eine Gewebshypoxie.

Erst durch diesen Umstand wird es verständlich, daß eine Kohlenmonoxidvergiftung, die mit einem COHb von 60% einhergeht, eine tödliche Bedrohung darstellt, während eine Anämie mit 40% des normalen Hämoglobingehaltes oder Zustände, die durch eine entsprechende Reduktion des Sauerstoffpartialdrucks bedingt sind, durchaus mit dem Leben zu vereinbaren sind (33).

Erschwerend kommt hinzu, daß Kohlenmonoxid einen negativ inotropen Effekt hat (128) und der erhöhte COHb-Spiegel kompensatorisch zu einem Anstieg von Hämoglobin und Hämatokrit führt, was wiederum die rheologischen Eigenschaften des Blutes verschlechtert (105, 163, 189, 228).

20% des resorbierten Kohlenmonoxids wechseln vom intrazum extravasalen Raum und werden hauptsächlich an Myoglobin zu COMb gebunden. Die Affinität der Myoglobins zu CO ist etwa 20 mal größer als zu O₂. Da das Myoglobin etwa 10% des Häm-Bestandes des Organismus ausmacht, sind die entstehenden COMb-Mengen gegebenenfalls beachtlich.

Etwa 1% des extravasalen CO verbindet sich mit dem Häm von Zytochromoxidasen der Atmungskette in Mitochondrien (96). Kohlenmonoxid wirkt also als Hemmstoff der oxidativen Phosphorylierung.

Im folgenden sollen die Wirkungen niedriger Kohlenmonoxid- bzw. COHb-Konzentrationen dargestellt werden, d.h. von Konzentrationen, wie sie für den Zigarettenraucher relevant sind. Wegen der Besonderheiten der Ex-

position beim Zigarettenrauchen in Form ganz kurzfristiger, intermittierender Inhalation sehr hoher CO-Konzentrationen muß dabei - vereinfachend - auf den Carboxyhämoglobin-Wert (COHb) als Bezugsgröße abgestellt werden. Als Obergrenze sollen dabei Werte von etwa 15% COHb gelten, die von starken Zigarettenrauchern erreicht werden können (84, 96). Besonderes Augenmerk soll aber den niedrigeren Konzentrationen bis etwa 6% COHb gelten, wie sie von mittelstarken Rauchern (und auch bei 8-stündiger Exposition gegenüber dem früheren MAK-Wert für CO von 50 ppm) regelmäßig erreicht werden.

Am Gefäßendothel konnte nach akuter und chronischer CO-Exposition mit COHb-Werten von 11,3 bis 13,6% eine erhöhte Kapillarpermeabilität durch eine Zunahme des transvaskulären Proteinstroms nachgewiesen werden (193, 218). Da in der Atherogenese initial Membranstörungen mit Auswirkungen auf die Interaktion zwischen strömendem Blut und Gefäßwand, z.B. durch Funktionssteigerung der Thrombozyten und Permeabilitätserhöhung des Arterienendothels (151, 156), sicherlich eine wesentliche Rolle spielen, wären derartige CO-Membraneffekte von besonderem Interesse.

Es ließ sich in Los Angeles ein Zusammenhang zwischen dem CO-Gehalt der Luft und der Sterbeziffer für Patienten mit Herzinfarkt nachweisen (229); doch blieben diese Untersuchungen nicht unwidersprochen (257).

Spohr et al. fanden keinen Zusammenhang zwischen COHb-Spiegeln ($5,6 \pm 0,5\%$) und den Parametern Blutdruck, Herzfrequenz, Laktat, Plasma-Dopamin-Beta-Hydroxylase, Cortisol, Blutzucker und freie Fettsäuren (229).

30-69 Jahre alte Zigarettenraucher mit COHb-Werten von 5% und darüber zeigten ein signifikant 21,2-fach erhöh-

tes relatives Risiko für die Entwicklung einer koronaren Herzkrankheit. Die Inzidenz an plötzlichem Herztod war gegenüber Nichtrauchern 15-fach erhöht (257).

Wurde das COHb bei jungen männlichen Rauchern und Nichtrauchern auf 5% erhöht, wurde die pulmonale Diffusionskapazität in Ruhe vermindert, und die Sauerstoffschuld unter Belastung - als Maß für die Integrität des Gesamtkreislaufs - stieg signifikant an (37).

Personen über 40 Jahre ohne Anamnese einer koronaren Herzkrankheit zeigten nach Zigarettenrauchen mit einem COHb-Anstieg auf 5,7 - 7,1% verstärkte ST-Depressionen im EKG und das Auftreten von Arrhythmien (122).

Patienten mit Angina pectoris gaben nach Rauchen mit einem COHb-Anstieg von 1,3 auf 2,9% ein typisches Schmerzsyndrom bei Belastung signifikant früher an, verbunden mit ausgeprägten ST-Depressionen im EKG (2).

Auch nikotinfreie Zigaretten führten bei entsprechenden COHb-Werten zu beschleunigtem Auftreten einer Angina pectoris nach Belastung (6).

Außer den "Akut-Studien" wurden Experimente mit chronischer CO-Exposition vorwiegend an Tieren durchgeführt. Bevorzugt untersuchte Parameter waren die Plasmalipide und die Entwicklung einer Arteriosklerose.

Astrup et al. gehörten zu den ersten, die im Kohlenmonoxid einen wichtigen atherogenen Faktor erkannten. Sie stellten die verschiedensten Versuche mit Kaninchen unter Cholesterinfütterung und ohne bei unterschiedlichen CO-Expositionen an. U.a. bewirkten mehrwöchige Expositionen gegenüber mäßig hohen CO-Konzentrationen (bis zu 16-18% COHb) bei cholesteringefütterten Kaninchen (hypoxieinduzierte) Veränderungen der Arterienwand, die von denen bei "Arteriosklerose" nicht zu unterscheiden

waren. Alleinige CO-Exposition - ohne Cholesterinfütterung - führte zu Endothelhypertrophie und -proliferation mit Auflockerung der subintimalen Strukturen (10, 12, 14, 259). Da andere Arbeitsgruppen die oben beschriebenen Veränderungen nicht zeigen konnten, entschlossen sich Astrup et al., ihre Versuche zu wiederholen. Aber selbst unter Verwendung letaler Kohlenmonoxiddosen (bis 4000 ppm) konnten sie ihre früheren Ergebnisse nicht reproduzieren (13, 106). Wiederum andere Autoren konnten allerdings die früheren Ergebnisse von Astrup et al. bestätigen.

Davies et al. untersuchten 24 Kaninchen, die alle mit 2% Cholesterin angereichertes Futter erhielten. 12 davon wurden über 10 Wochen jeweils 4 Stunden pro Tag CO exponiert, wobei am Ende jeder Exposition etwa 20% COHb erreicht wurden. Bei der CO-Gruppe war die Koronaratherosklerose signifikant ausgeprägter, und die Plasmalipoproteine zeigten signifikant mehr Cholesterin in der Dichte-Fraktion $d < 1,006$ (Lipoproteine niedriger bis sehr niedriger Dichte) als bei der nichtexponierten Kontrollgruppe (51).

Wichtige Untersuchungen wurden in letzter Zeit an Hunden durchgeführt:

Aronow et al. erzeugten bei 20 anaesthesierten, thoraxeröffneten Hunden im Vergleich zu nicht CO-exponierten Hunden einen COHb-Spiegel von 6,48%. 100 ppm CO waren über zwei Stunden zugeführt worden. Es fand sich eine signifikante Senkung der Herzventrikel-Flimmerschwelle ($p < 0,005$) (9). Andere Autoren konnten bei 11 anaesthesierten Hunden durch kurzfristige Expositionen gegen 5000 ppm CO eine Stunde nach Koronararterienligatur das COHb auf 4,9 - 17% anheben. Dies führte bereits bei den

niedrigsten COHb-Werten zu einem signifikanten Anstieg der ST-Strecke im epikardialen EKG als Zeichen einer myokardialen Ischämie, die mit steigenden COHb-Spiegeln zunahm. Herzfrequenz, Blutdruck, links-atrialer Druck, Auswurfvolumen und Blutfluß zum ischämischen Myokard veränderten sich dabei nicht. Dagegen nahm der Blutfluß zum nicht ischämischen Myokard prozentual fast doppelt so stark zu wie der Anstieg des COHb (19).

Macaca-Irus-Affen, die für 2 Wochen 250 ppm CO exponiert wurden, zeigten bei COHb-Werten von $20,6 \pm 1,2\%$ deutliche Veränderungen der Ultrastruktur der Koronararterien: subendotheliales Ödem, Lückenbildung in der Lamina elastica interna ("gaps"), Infiltration des Subendothels mit monozytenartigen Zellen, von denen viele Fetttropfen enthielten (250).

Wie verschiedene weitere Tierexperimente zeigten, wird auch die Funktion der Thrombozyten durch das Kohlenmonoxid negativ beeinflusst. Sofort nach der Exposition gegenüber CO steigt die Plättchenadhäsivität an, es besteht eine erhöhte thrombotische Tendenz (6, 23, 134, 154).

Auf die Untersuchungen am Miniaturschwein der eigenen Arbeitsgruppe soll in Kap. 2.6. näher eingegangen werden.

Die hier zusammengestellten Untersuchungen - so unterschiedlich sie auch zu bewerten sein mögen - zeigen, daß das Kohlenmonoxid bereits in Konzentrationen, wie sie unter besonders ungünstigen Bedingungen in unserer Umwelt, am Arbeitsplatz und insbesondere auch beim Zigarettenrauchen auftreten, zu funktionellen Störungen des Herz-Kreislaufsystems führen kann.

Die Frage, ob das Kohlenmonoxid durch die relative Hypoxämie (Bildung von COHb) eine hypoxische Schädigung der

Gefäßwand verursacht, ob das CO bzw. das COHb eine direkte toxische Wirkung besitzt, oder ob es über Veränderungen der Blutbestandteile (z.B. Thrombozyten) und deren möglicherweise gestörten Interaktion mit der Gefäßwand und Veränderung der Blutrheologie wirkt, bleibt jedoch auch weiterhin noch offen.

2.3. Tiermodelle in der Arterioskleroseforschung

2.3.1. Kaninchen

Das Kaninchen war das erste Tiermodell in der Arterioskleroseforschung und ist immer noch das am meisten verwendete. Saltykow (1908) und Ignatowski (1909) entdeckten, daß Diäten reich an tierischem Fett (Milch, Fleisch und Eier) zu "Atherosklerose" in der Kaninchenaorta führten. Anitschkow (1913) konnte später neben anderen (3, 256, 264) zeigen, daß Cholesterin der atherogene Faktor in diesen Diäten war.

Menge und Art der Futterfette und Cholesterinmenge und -fütterungsdauer beeinflussen die Schwere der auftretenden Läsionen (212). Speziell atherogen wirkt dabei das Cholesterin, unabhängig von der Cholesterinämie (129). Eine halbsynthetische Diät reich an gesättigten Fetten vermochte bei Kaninchen eine Hyper- β -Lipoproteinämie und Hypercholesterinämie hervorzurufen (131); dabei ließ sich zeigen, daß die Art des Kohlenhydrats in dieser Diät das Ausmaß der Atherosklerose beeinflusste (Saccharose ist stärker atherogen als Glukose) (128, 130).

Kaninchen besitzen eine ausgesprochen niedrige spontane Atheroskleroserate, andererseits ist es offenbar leicht, durch entsprechende diätetische Maßnahmen in kurzer Zeit Gefäßläsionen zu erzeugen. Kaninchen sind einfach zu beschaffen, ihre Haltung, Behandlung und Fütterung bereiten keine Schwierigkeiten. Was ihre körperliche Größe anbelangt, sind sie geeignet für eine große Anzahl von Eingriffen, Gewebeuntersuchungen und Blutstudien. Große Nachteile aber sind, daß Kaninchen reine Pflanzenfresser sind und daß ihre fettreichen Gefäßläsionen weder in ihrer morphologischen Zusammensetzung noch in ihrer regionalen Verteilung der des Menschen entsprechen. Die Läsionen, die beim Kaninchen gefunden werden, bestehen hauptsächlich aus Schaumzell-Formationen (foam cells), welche eine geringe Progressivität in Hinblick auf die Entwicklung fortgeschrittener atherosklerotischer Plaques mit Nekrose, Zellproliferation etc. zeigen (111).

Während die Arteriosklerose beim Menschen hauptsächlich große und mittlere Arterien erfaßt und eine stärkere Ausprägung in der abdominalen Aorta zeigt (71), finden sich Gefäßveränderungen beim Kaninchen mehr in kleinkalibrigen Arterien. Aortaler Befall manifestiert sich größtenteils in thorakalen Abschnitten (267).

In den letzten Jahren ist es allerdings gelungen, durch die Kombination einer spezifischen lipidreichen und cholesterinreichen Diät und mehrmalige Injektionen von Fremdprotein (Pferdeserum) beim Kaninchen Koronargefäßläsionen zu induzieren, die eine gewisse Ähnlichkeit mit der menschlichen, fortgeschrittenen Koronarsklerose aufweisen (87, 172, 173).

Die Kombination von cholesterinhaltiger Diät unter Hinzugabe von Epinephrin erzielte gleichartige Ergebnisse (44).

2.3.2. Ratten

Die Ratte ist ein in der medizinischen Forschung sehr häufig verwendetes Versuchstier. Ihr Stoffwechsel ist sehr gut erforscht, und es ist aufgrund ihrer geringen Größe, ihrer leichten Verfügbarkeit und einfachen Haltung möglich, vergleichende Studien an einer statistisch ausreichend großen Zahl standardisierter Tiere vorzunehmen.

Wissler et al. konnten zeigen, daß die Ratte keine spontan auftretende Atherosklerose entwickelt (266). Die Ratte wird sogar als "resistente" Art bezüglich der Atherogenese betrachtet, d.h. daß methodisch einfache Versuchsansätze keinen atherogenen Effekt zeigen, dagegen können durch aufwendige und unphysiologische Maßnahmen Gefäßläsionen erzeugt werden.

Unter Zufuhr von Cholesterin plus Cholinsäure kommt es zu Cholesterinämie und Sudanophilie der Aorta, aber zu keinen Intimaveränderungen (192). Diäten mit Fett, Cholesterin, Cholinsäure und Thiouracil führten dagegen auch bei Ratten zu Atherosklerose (90, 142). Der Versuch, diese Diäten durch Weglassen des Thiouracils weniger toxisch zu machen, führte zu Diättempfehlungen mit hohem Butteranteil, Cholinsäure und Cholesterin (190, 242) oder zu Diäten mit viel Schweineschmalz und Cholesterin (110), wodurch in jedem Fall Aortenläsionen hervorgerufen werden konnten. Thomas et al. haben genaue Angaben für eine atherogene "Standarddiät" für Ratten veröffentlicht (249).

Wegen der hohen mechanischen Beanspruchung - ähnlich der A. poplitea des Menschen - soll die Schwanzarterie der Ratte für entsprechende Fragestellungen ein hochwertiges Untersuchungsmodell sein (150).

2.3.3. Vögel

Vögel sind meist klein und häufig Allesfresser. Insgesamt ist die Atherosklerose bei Vögeln sehr verbreitet, wobei sich oft Bilder finden, die der menschlichen sehr gleichen (82, 128). Auch starke Hypertonien können bei fast allen Vogelarten auftreten (160, 270).

Die Plasmacholesterin- und -triglyzeridspiegel des Huhns entsprechen denen des Menschen. Auch die Zusammensetzung des Lipidanteils - aus HDL, LDL, VLDL und Chylomikronen - gleicht der des Menschen (270). Spontane Aortenatherosklerose konnte bei 45% der männlichen und 41% der weiblichen Haushühner nachgewiesen werden. Zusätzlich konnte u.a. durch Cholesterinfütterung Atherosklerose hervorgerufen werden (270), wobei eine Dosiswirkungsbeziehung bestand. Außerdem wirkten gesättigte Fette oder Fettsäuren stärker atherogen als ungesättigte (240). Typisch ist das Auftreten von Schaumzellen in frühen Stadien (50).

Bei Truthühnern fand sich eine auffallend hohe Inzidenz an disseziierenden Aneurysmen der Aorta descendens, besonders im Bereich von Atheromprädispositionsstellen. Betroffen waren besonders gut gefütterte, männliche Tiere, so daß ätiologisch eine exzessive Fettzufuhr angeschuldigt wird. Offenbar wirken aber auch hormonelle Einflüsse mit. Vorausgehende atherosklerotische Plaques zeigten Lipideinlagerungen und eine mukoide Degeneration der Media (80). Experimentell ließ sich das Auftreten dieser Aortenaneurysmen bis hin zur tödlichen Ruptur durch β -Aminopropionitril fördern.

Die Weiße Carneau Taube entwickelt spontan atheroskle-

rotische Läsionen, die denen des Menschen gleichen (40). Bis zum Alter von drei Jahren entwickelte sich bei 95% der Tiere eine spontane Atherosklerose (169). Die Serumcholesterinspiegel waren aber im Mittel nicht höher als bei anderen Taubenrassen, die keine Atherosklerose entwickeln, so daß genetische und/oder metabolische Faktoren ursächlich angenommen werden müssen. Eine Beziehung zwischen Blutdruck und Aorten- bzw. Koronarsklerose war nicht nachweisbar (169). Cholesterinfütterung führte bei der Weißen Carneau Taube geschlechtsunabhängig zu wesentlich vermehrter Inzidenz und Schwere der atherosklerotischen Läsionen (39). Schwere und Ausmaß der Läsionen hingen außerdem vom verabreichten Fetttyp (gesättigt oder ungesättigt) und der zugeführten Eiweißmenge ab (136). Diese Befunde legen nahe, daß das Zusammenwirken aller Nahrungskomponenten wichtig für die Festlegung des Effektes jeder einzelnen ist.

Für bestimmte - besonders pharmakologische - Fragestellungen scheinen auch Wachteln geeignete Modelle zur Atheroskleroseforschung zu sein. Vor allem gelang es, die atheroskleroseempfindlichen Tiere heraus- und weiterzuzüchten (SEA Japanese quail) (53). Wachteln sind klein, können schnell und bei akzeptablem Kostenaufwand in großer Menge erzeugt werden und sind einfach in Haltung und Umgang.

2.3.4. Primaten

In den letzten Jahren bestand ein Trend zum Einsatz von Affen für die Arterioskleroseforschung. Insbesondere die Rhesusaffen und Schimpansen stehen in ihrer Physio-

logie und Pathophysiologie dem Menschen sehr nahe (38). Durch die Arbeiten von Taylor et al. konnte am Beispiel des Rhesusaffen gezeigt werden, daß die Entwicklung, Verteilung, Spontaninzidenz und Morphologie atherosklerotischer Läsionen eine ganze Reihe von Parallelen zum Menschen aufweisen. In weiteren Arbeiten konnten diese Befunde auch auf andere Affenarten übertragen werden, wobei einschränkend gesagt werden muß, daß jede einzelne Tiergattung ihre eigenen atherosklerotischen Charakteristika aufweist (168, 243, 245, 268).

Primaten sind typische Allesfresser; ihr Metabolismus ähnelt sehr dem der Menschen, und es ist unschwer möglich, durch geeignete Diäten, die in der Zusammensetzung der menschlichen Nahrung entsprechen, atherosklerotische Läsionen zu induzieren (5, 125, 126, 143, 269). Unter Cholesterinfütterung sind Herzinfarkte beobachtet worden (244). Eine Diät mit 2 % Cholesterin und 25 % Fett als Butterfett, Mais- oder Erdnußöl über 50 Wochen führte zuverlässig zu einem Anstieg der Serumlipide. Die höchsten Werte fanden sich in der Butterfettgruppe (etwa 1100 mg/100 ml), diese Gruppe zeigte schwere Aortenläsionen mit reichlicher Fettablagerung, aber nur geringer Zellproliferation und Kollagenablagerung. Die gravierendste Atherosklerose mit dicken, fibrösen Plaques und Einengung von Gefäßostien einschließlich Koronararterienschädigungen fand sich in der Erdnußölgruppe; auffallend dabei waren eine ausgeprägte Intimazellproliferation und ein hoher Kollagengehalt (255).

Für die Arterioskleroseforschung kommt den Primaten weiterhin zugute, daß sie in ihrer Anatomie und Physiologie (Herz-Kreislaufsystem, Ernährung etc.) mit dem Menschen weitgehend übereinstimmen und daß atherosklerotische Läsionen beim Primaten zu den gleichen Kompl-

kationen führen, wie wir sie vom Menschen her kennen (126, 245).

Auf der anderen Seite gelten diese Versuchstiere als sehr schwierig im Umgang, sie sind teuer in der Anschaffung, und es bedarf für ihre Haltung ganz spezieller Einrichtungen.

2.3.5. Schweine

Eine Vielzahl von Übereinstimmungen bezüglich Größe, Gewicht, Muskel- und Skelettsystem, Atmung, Kreislauf, Blut, Gerinnung, Fibrinolyse, Lymphsystem, Ernährung, Verdauung, Stoffwechsel, Endokrineum, Zentralnervensystem, Augen, Zähnen und Haut stellt das Schwein in physiologischer Hinsicht dem Menschen besonders nahe (48, 58, 147, 159). Eine neuere Untersuchung konnte sogar zeigen, daß das Lipoproteinmuster des Schweins bei der Beurteilung sowohl mit Hilfe der Lipidelektrophorese als auch durch die analytische Ultrazentrifuge dem des Menschen sehr ähnlich ist (123).

Die besondere Eignung für die Arterioskleroseforschung ist vielfach belegt. In ihrer formalen wie kausalen Pathogenese, in Morphologie und Verteilung erweist sich die Atherosklerose des Schweins als ein polyätiologisches Phänomen mit den grundsätzlich gleichen Wesenszügen wie die des Menschen (47, 241). Dahme et al. (48, 49) gelang es in umfangreichen histologischen und enzymhistochemischen Untersuchungen zu zeigen, daß der Atherosklerose des Schweins die gleichen strukturellen Veränderungen zugrunde liegen wie der des Menschen: frühzeitige Intimasklerosen, häufig gekennzeichnet durch ausgeprägte Lipideinlagerungen, welche im fortge-

schrrittenen Lebensalter zunehmen und nicht selten durch Verkalkungsprozesse der Gefäßwandintima und -media ergänzt werden.

Das Schwein entwickelt altersabhängig eine spontane Atherosklerose (77, 226), diese z.B. frühzeitiger als Affen. Die Entwicklung kann durch Diäten reich an Fett, besonders gesättigten Fetten, und Cholesterin verstärkt und beschleunigt werden (59, 206, 248).

Luginbühl et al. konnten dies eindrucksvoll demonstrieren, als es bei einer Gruppe von Schweinen zu ausgeprägten zerebralsklerotischen Veränderungen - mit Zerebralinfarkt - kam, die jahrelang menschliche Speiseabfälle fraßen (139).

French et al. (1965) fanden bei unbehandelten Schweinen "fatty streaks" (62), und die Arbeitsgruppe um Scott (1972) konnte durch eine sechs Monate dauernde Cholesterinfütterung das Auftreten von fibrösen Plaques, die denen des Menschen sehr ähnlich waren, auch beim Schwein nachweisen (213). Schließlich gelang es, auf experimentellem Wege Koronargefäßläsionen zu erzeugen, die an okkludierende Atherome erinnerten, wie man sie in menschlichen Herzkranzarterien findet.

Lee et al. erreichten dies durch Verfütterung einer mit Cholesterin angereicherten Diät über fünf bis sechs Monate in Verbindung mit einer zweimaligen, präkordialen Röntgenbestrahlung von je 1500 rad (132).

Zu einem sehr ähnlichen Ergebnis kamen Nam et al., in dem sie anstelle der Bestrahlung, noch vor Einsetzen der atherogenen Diät, eine Desendothelialisierung der Koronararterien durchführten. Dies geschah durch Zurückziehen eines ein bis zwei Zentimeter weit in die Koronarostien eingeführten und anschließend aufgepumpten Fogarty-Ballonkatheters (186).

Zusammenfassend kann man Kalich zitieren, der das Schwein neben dem Menschenaffen als wichtigstes Versuchstier im Dienste der Menschheit betrachtete (116). Nicht ganz unbedeutend ist auch die Tatsache, daß die Haltungskosten für Schweine rund eine Zehnerpotenz niedriger liegen als für Affen. Nach Ansicht von Luginbühl erfüllt das Schwein alle wichtigen Kriterien, nach denen Tiermodelle für Arteriosklerosestudien ausgewählt werden sollten (138). Smidt bezeichnet es hinsichtlich der Genese der Arteriosklerose als das ideale Versuchstier für das Studium der Wechselwirkungen zwischen Gefäßwand, Thrombozyten und Blutgerinnung (227).

2.3.6. Miniaturschweine

Durch die Züchtung von Miniaturschweinen gelang es, ein in der Haltung und Anschaffung billigeres und in der Pflege einfacheres Versuchstier zu gewinnen, als es bei den großen, früher verwendeten Hausschweinen der Fall war (116). Daneben zeichnet sich das Miniaturschwein durch besondere Robustheit aus. Häufige, langdauernde und schwierige operative Eingriffe, wiederholte Narkosen, häufige Blut-, Gefäß- und Gewebeentnahmen, monatelang liegende Katheter und verschiedene Diäten werden sehr gut toleriert (159).

Die Tiere sind in ihrem Verhalten relativ ruhig, zahm und zutraulich und gewöhnen sich immer schnell an eine neue Umgebung und die mit ihnen umgehenden Personen, so daß die Ställe ohne Gefährdung und meist ohne wesentliche Erregung der Schweine betreten und Manipulationen an den Tieren vorgenommen werden können.

2.4. Das pathomorphologische Bild der Arteriosklerose

Die Arteriosklerose ist die häufigste und wichtigste Arterienerkrankung. Mit der Bezeichnung Arteriosklerose wird die Verhärtung der Arterien betont. Vielfach spricht man auch von Atherosklerose, um damit auch die Verfettung - das "Atherom" - zum Ausdruck zu bringen. Das morphologische Bild der Arteriosklerose ist uneinheitlich, und es werden unter dem Sammelnamen der Arteriosklerose verschiedene krankhafte Veränderungen der Arterienwände zusammengefaßt. Im Vordergrund stehen dabei herdförmige Intimaveränderungen. Mit zunehmendem Alter treten sie gehäuft auf, können jedoch selbst im hohen Alter weitgehend fehlen oder schon bei Jugendlichen unter pathologischen Bedingungen stärker ausgeprägt sein. Die Arteriosklerose ist eine polyätiologische Erkrankung, die nicht kontinuierlich fortschreitet, sondern sich in der Regel in Schüben entwickelt (105).

Die Arteriosklerose wird von der WHO definiert als eine variable Kombination von Veränderungen der Arterienintima, die mit einer herdförmigen Anhäufung von Lipiden, komplexen Kohlehydraten, Blut und Blutbestandteilen, mit der Bildung eines fibrösen Gewebes und mit Kalkablagerungen einhergeht und mit Veränderungen der Media verknüpft ist (zit. nach 205). Diese Definition ist bewußt rein deskriptiv gehalten, weil die Pathogenese der Arteriosklerose in vielen Punkten noch ungeklärt ist. In Anlehnung an die Einteilung von Movat, Haust und More (1959) (180) sollen die arteriosklerotischen Frühveränderungen ("early lesions") - Intimaödem, Fettstreifen

("fatty streaks", die in etwa der Lipoidose des deutschen Schrifttums entsprechen) und Parietalthromben - im folgenden kurz dargestellt werden.

Intimaödem:

Das Intimaödem - gelegentlich auch als das eigentliche Initialstadium bezeichnet (205) - erscheint makroskopisch als "gelatinous elevation" (180). Histologisch zeichnet es sich durch die Ansammlung zellfreier wabiger oder homogener Flüssigkeit mit oder ohne Fibrin zwischen aufgelockerten und auseinandergedrängten Fasern aus. Diese dem Lungenödem vergleichbare Form des Ödems kann folglich als "freies Ödem" bezeichnet werden. Sinapius (222) unterscheidet es von einem gebundenen Quellungsödem, bei dem sich das infiltrierte Plasma nicht als freie Flüssigkeitsansammlung erkennen, sondern nur aus Veränderungen der Fasern und der Grundsubstanz, vor allem aus einer Verbreiterung der gequollenen Fasern und einer erheblichen Abschwächung ihrer Färbbarkeit mit Bindegewebsfärbungen, eventuell auch bei Quellungsnekrosen am völligen Verlust der Kernfärbbarkeit, indirekt erschließen läßt.

Freies Ödem in Form glasiger Herde ("gelatinous elevations") kommt fast nur an der Aorta und hier vereinzelt im 3. Lebensjahrzehnt, häufiger im 4. und 5. Lebensjahrzehnt bei einer in voller Entwicklung begriffenen Arteriosklerose vor. In den Femoralarterien ist es selten, in den Koronararterien bisher nicht nachgewiesen. Dagegen ist das Quellungsödem schon in frühen Stadien der Koronarsklerose bei Kindern gelegentlich zu sehen und spielt später vor allem als Rezidiv eine große Rolle. Häufig findet man es auch an den Femoralarterien (222).

Die gelben Fettstreifen:

Diese Veränderung ist wegen ihrer gelben Farbe makroskopisch leicht zu erkennen. Sie erscheint als ein flacher oder leicht erhabener, runder oder länglicher, bis zu 0,5 cm groß und meist scharf begrenzter Herd. Sie tritt einzeln oder in Gruppen auf; größere Läsionen entstehen durch Konfluieren sich ausbreitender benachbarter Kleinherde (69, 94, 180).

Mikroskopisch stellen die kleinsten dieser Läsionen eine bescheidene Anzahl von Fetttröpfchen enthaltenden Intimazellen in nicht sichtbar verändertem Bindegewebe dar. Elektronenmikroskopisch wurden diese Zellen als glatte Muskelzellen identifiziert (70). Die intrazellulären Fetttröpfchen nehmen mit dem Wachsen des Streifens an Zahl und Größe zu und füllen schließlich den gesamten zytoplasmatischen Raum aus. Solche Myozyten werden damit zu myogenen "foam-cells" (=Schaumzellen) (15). Mit ihrem Zerfall wird das Fett ins Interstitium entladen, wo es zur Ansammlung in den tieferen Schichten neigt. Makrophagen sind dann zu beobachten, die das interstitielle Fett phagozytieren und somit den zweiten Typ von Schaumzellen darstellen (94).

Fettstreifen ("fatty streaks") sind eine charakteristische Frühveränderung schon an Aorten junger Menschen und treten besonders häufig und ausgedehnt im höheren Lebensalter an Femoral- und Koronararterien unabhängig vom Grad und von der Ausdehnung der Arteriosklerose, besonders bei Diabetikern, auf (222).

Parietalthromben:

Bei Parietalthromben als Frühveränderung lassen sich Mikrothromben und Makrothromben unterscheiden. Mikrothromben sind in allen Arterienabschnitten, die von Ar-

teriosklerose bevorzugt sind, relativ häufig, bewirken aber nach Inkorporation und Organisation nur unwesentliche Intimaverdickungen. Makrothromben, d.h. mit bloßem Auge, eventuell mit Hilfe der Lupe erkennbare thrombotische Auflagerungen, die sich häufig auch atherosklerotischen Polstern aufschichten, sind seltener und tragen nach bindegewebiger Organisation zur fortschreitenden Lichtungseinengung durch fibröse Intimaschichten wesentlich bei. Mikrothromben kommen als reine Plättchenthromben vor und lassen sich übereinstimmend mit Angaben von Chandler (1972) schon in den ersten drei Lebensjahrzehnten gelegentlich feststellen (36). Später werden sie vor allem bei stenosierender Arteriosklerose erheblich häufiger und sind dann nahezu regelmäßig nachzuweisen. Makrothromben kommen stets als gemischte Thromben aus Thrombozyten, Fibrin und meist zahlreichen Erythrozyten relativ häufig in den Femoralarterien, bei vorzeitiger und bei späterer progredienter Arteriosklerose, gelegentlich jedoch auch in den Koronararterien, vor.

In der Aorta kommen Parietalthromben und Ödem, an den Femoral- und Koronararterien Mikrothromben und Fettstreifen oft kombiniert vor, besonders im Bereich kleiner Intimarisise (222).

Arteriosklerotische Veränderungen treten fast immer herdförmig auf, meist in Form von Beeten, die auch als "Plaques" bezeichnet werden. Große arteriosklerotische Beete werden an der Oberfläche von einer schmalen oder breiteren Bindegewebsschicht begrenzt. Vor allem an der Basis der Herde treten Quellungen und Nekrosen auf. Darin sind tropfenförmig ausgefallene Lipide und Cholesterinkristalle nachweisbar. Die Ähnlichkeit derartiger

Herde mit Atheromen der Haut hat der "Atherosklerose" ja bekanntlich ihren Namen gegeben. Bei fortschreitender Nekrose in großen Beeten, die durch mangelhafte Ernährung des Gewebes begünstigt wird, wird die bedeckende Bindegewebsschicht immer dünner und reißt schließlich ein. Cholesterinkristalle treten dann in die Blutbahn über und können eine Cholesterinkristallembolie, z.B. in der Niere oder der Skelettmuskulatur, verursachen. Zurück bleibt ein Defekt mit zerrissenen Rändern - das Vollbild eines arteriosklerotischen Geschwürs -, der später wieder gereinigt und von Endothel bedeckt werden kann. Solche arteriosklerotischen Geschwüre begünstigen die weitere Thrombenentstehung.

Kommt es neben der Bindegewebsfaserbildung zum Verkalcken der Atheromherde bzw. des atheromatösen Geschwürsgrundes, so ist das Charakteristikum der echten Sklerose vorhanden. Dies kann, vor allem an der Bauchaorta, sogar bis zur Verknöcherung führen.

Wenn sich auch die arteriosklerotischen Veränderungen vorwiegend in der Intima abspielen, so sind oft auch die inneren Schichten der Media mitbetroffen. Dabei können Verfettung, Bindegewebsvermehrung, Nekrose und Kalkablagerungen in so vielfacher Weise kombiniert auftreten, daß mannigfaltige pathologische Bilder zustande kommen.

2.5. Aktuelle Theorien über die Pathogenese der Arteriosklerose

Es ist eine ganze Reihe verschiedener Arteriosklerosetheorien entwickelt worden, die ganz unterschiedliche Prioritäten setzen.

Die einen sehen die primäre Störung in einer erhöhten Permeabilität der inneren Gefäßwandschichten mit Störung des radialen Plasmastroms durch die Gefäßwand, andere messen der Störung des longitudinalen Saftstroms die größte Bedeutung bei. Oder es wird eine gesteigerte unspezifische Mesenchymreaktion angeschuldigt. Wieder andere postulieren eine genetisch programmierte Einlagerung von Lipiden in glatte Muskelzellen der Gefäßintima mit sekundärer Proliferation und Ausbildung fibröser Plaques.

Eine wichtige Rolle wird dem reizinduzierten Einwandern von Mediamuskelzellen in die Intima mit nachfolgender Proliferation und Lipideinlagerung unter Ausbildung einer fibromuskulären Intimaverdickung zugesprochen. Auch "parasymphatische Regulationsstörungen" sowie immunologische ("autoimmunologische Hyperlipidämie" infolge Eindringens zirkulierender Lipoprotein-Antikörper-Komplexe in die Arterienwand), virale oder mutagen-proliferative Vorgänge werden diskutiert. Demgegenüber messen die Abscheidungstheorien Adhäsionen von Elementen des strömenden Blutes auf der Gefäßinnenwand die Hauptrolle zu. Dabei hat man zunächst den Fibrinausfall in den Vordergrund gestellt, während in den letzten Jahren die Rolle der Blutplättchen zunehmend mehr diskutiert wird. In neuerer Zeit werden auch bestimmte Prostaglandine ursächlich mit der Arterioskleroseentstehung in

Zusammenhang gebracht.

Im folgenden soll auf einige Theorien näher eingegangen werden.

2.5.1. Theorie der primären Endothelschädigung

Normalerweise grenzt die semipermeable Membran des Endothels den Blutstrom vom Endothel und vom subendothelialen Raum ab. Am intakten Gefäß reguliert das Endothel selektiv den Transport von Plasmastoffen in die Gefäßwand; es stellt somit eine selektive Barriere für Makromoleküle und korpuskuläre Blutbestandteile dar, die nicht für den Stoffwechsel der inneren Arterienwand benötigt werden - sogenannte Schutzfunktion für den Gefäßwandstoffwechsel (97, 253, 254).

Für den Transport besteht ein duales Porensystem aus Interzellularfugen und plasmalemmalen Vesikeln (97, 166). Die Protoplasmahäutchen der Endothelzellen liegen zwar eng beieinander, zwischen den Zellfortsätzen bleiben aber kleine Öffnungen - sogenannte Stigmata - bestehen, die von niedermolekularen Stoffen passiert werden können. Makromolekulare Stoffe und Partikel können durch die Zellen hindurchgeschleust werden.

Durch mechanische, metabolisch-toxische, entzündliche, immunologische und genetische Ereignisse, durch das Einwirken von beta-Lipoproteinen oder Interaktion mit Thrombozyten kommt es zu einer Endothelschädigung (45, 46, 147).

Die Endothelschädigung geht einher mit einer Permeabilitätserhöhung, wobei zwei Mechanismen diskutiert werden: 1.) durch eine direkte Veränderung oder eine De-

struktion der lipoidalen Endothelmembranstrukturen kommt es zu Leckstellen im Endothel und zu einer Aufsplitterung der Lamina elastica interna; 2.) durch temporäre Endothelkontraktionen - es existieren intraendothelial gelegene kontraktile und relaxierende Proteine (167) - kommt es zu einer Erweiterung der feinen Spalten zwischen den Endothelzellen, der Interzellularfugen (212, 215). Der endotheliale Zellverband öffnet sich jedoch auch bei jedem Proliferationsvorgang (221).

Shimamoto et al. (216, 217) konnten anhand rasterelektronenmikroskopischer Aufnahmen zeigen, daß die Endothelkontraktion an einer Oberflächenfältelung der Endothelien erkennbar ist, was zu einer als "waschbrettartig" beschriebenen Rauigkeit führt. Das von den Autoren als "endothelial cell contraction" bezeichnete Phänomen führt zu einer Vergrößerung der interzellulären Spalten.

Durch die beiden obengenannten Permeabilitätsveränderungen kommt es zu einem Einstrom von Plasma in die Gefäßwand (68). Das Plasma verbindet sich mit der Grundsubstanz oder mit Fasern, so daß feinste Quellungs- oder Ödemherde entstehen. Die Veränderungen der Endothelschranke lassen auch Lipide, Lipoproteine und Proteine in die Intima eindringen. Durch diese Fettaufnahme erleiden die Endothelzellen schwere Veränderungen, können zugrunde gehen und wieder ersetzt werden. Glatte Muskelzellen können aus der Grenzzone zur Media in die benachbarte Media einsprossen, dort Fett aufnehmen und so zu Schaumzellen werden (166).

Nachfolgend kommt es rund um das Lipidnest zu Nekrose und Fibrosierung. In dem Gebiet einer fortgeschrittenen

Arteriosklerose mit kollagener Fibrose kommt es dann bei weiterem Einwirken der Noxe zu feinen Brüchen, zu Thrombozytenablagerungen - es entstehen sogenannte "Segel" über den Bruchstellen - und zur muralen Thrombose (45, 46).

Einen interessanten Aspekt lieferte auch Doerr (56). Er konnte zeigen, daß große Teile derjenigen Stoffe aus dem Blutplasma, die an den Prädilektionsorten der Arterienwände, also den Innenkurven gekrümmter Gefäßstrecken oder an den Ursprüngen von Seitenarterien, in die Intima eintreten, über die Adventitia und die adventitiellen Lymphgefäße abtransportiert werden (109). Dieses "durch und durch" der Permeation nennt er "Perfusion - ex centro in peripheriam et ab intima in adventitiam". Für die Arteriosklerose soll primär eine Störung der Permeabilität von Gewicht sein. Der intramurale Flüssigkeitsaufstau soll dadurch zustande kommen, daß mehr einsickert als abtransportiert werden kann. Die Blutplasmaeiweißkörper - Mukopolysaccharide (Proteoglykane), Aminosucker und anorganische Substanzen - bestimmen anfänglich den Charakter der eingesickerten Flüssigkeit. Später hingegen nehmen Neutralfette, Lipide und Lipoproteine eine vorrangige Rolle ein.

2.5.2. Lipidtheorie

Es besteht kein begründeter Zweifel mehr daran, daß die Hyperlipidämie, genauer gesagt die Hypercholesterinämie, ein wesentlicher, nach manchen Autoren sogar der wesentlichste Risikofaktor für die koronare Herzkrankheit ist. Zahlreiche epidemiologische Studien - wie

auch die Framingham-Studie - konnten eine ganz eindeutige mindestens lineare, wenn nicht gar exponentielle ($\text{Risiko} = k \times \text{Cholesterinspiegel}$) (147) Beziehung zwischen Höhe des Serumcholesterins und Inzidenz an koronarer Herzkrankheit nachweisen (104, 117, 118, 119, 127).

Das Gleiche soll auch für die periphere arterielle Verschlusskrankheit gelten. Umgekehrt findet man die Arteriosklerose bei niedrigen Serumcholesterinwerten (unter 150 mg/dl) extrem selten.

Darüberhinaus weiß man seit langem, daß die voll entwickelte Läsion der Arteriosklerose, nämlich das Atherom, sehr reichlich intra- und extrazellulär abgelagerte Lipide enthält.

Es ist deshalb nicht verwunderlich, daß sich die Arterioskleroseforschung seit Jahren mit den Problemen des Lipidstoffwechsels und -transports, bzw. der Transfermechanismen zwischen Blut und Gefäßwand beschäftigt. Wegen ihrer schlechten Wasserlöslichkeit liegen die Lipide im Serum üblicherweise proteingebunden, als sogenannte Lipoproteine, vor. Nach Ultrazentrifugation kann man sogenannte high-density-lipoproteins (HDL; alpha-Lipoproteine), low-density-lipoproteins (LDL; beta-Lipoproteine), very-low-density-lipoproteins (VLDL; prä-beta-Lipoproteine) und Chylomikronen unterscheiden. Diese einzelnen Lipoproteinklassen unterscheiden sich quantitativ und qualitativ hinsichtlich ihrer Lipidzusammensetzung. Allgemein läßt sich sagen, je weniger dicht und größer ein Lipoproteinpartikel ist, um so höher ist sein Lipidanteil und entsprechend kleiner der Proteinanteil.

Zwar wird auch eine Erhöhung des Triglyzeridspiegels als arteriosklerosefördernd angesehen, der Erhöhung

des Serumcholesterinspiegels dürfte jedoch mehr Bedeutung zukommen. Auf alle Fälle sind beide als Risikofaktoren einzustufen (214). Cholesterin wird vor allem in der LDL-Fraktion transportiert, die Triglyzeride in der VLDL-Fraktion. Das Cholesterin ist erhöht bei den Hyperlipoproteinämien vom Typ III und besonders II nach Fredrickson, die Triglyzeride bei den Typen I, III, IV und V (260). Diätetisch induzierte und auch metabolisch verursachte Hyperlipidämien, wie beispielsweise bei der Lipoidnephrose und beim Hypothyreoidismus sollten nicht vergessen werden.

Nach den bisherigen Untersuchungen haben die einzelnen Lipoproteinfraktionen einen unterschiedlichen Einfluß auf Blutplättchen und Endothel und damit auf die Entwicklung obliterierender Angiopathien. Dem physiko-chemischen Verhalten, der Struktur und der damit auf das Engste verknüpften biologischen Wirkung der Plasmalipoproteine, den relativen Konzentrationsverhältnissen der einzelnen Fraktionen im Plasma zueinander, sowie der Dynamik und dem Ort ihres Stoffwechsels kommt eine entscheidende Bedeutung bei der Entstehung der Arteriosklerose zu (214). Die LDL-Fraktion ist atherogen und wie die VLDL-Fraktion positiv mit dem Auftreten eines Herzinfarkts korreliert, während der HDL-Fraktion eher eine protektive Wirkung zukommt. Die Tatsache, daß Frauen vor der Menopause erheblich seltener an koronarer Herzkrankheit leiden als gleichaltrige Männer, korreliert gut mit ihren höheren Serumspiegeln an HDL-Cholesterin (76).

Nordøy et al. konnten zeigen, daß LDL die Fähigkeit der Endothelzellen, die Plättchenaggregation zu hemmen, re-

duziert; es kam zu einer verstärkten Tendenz zur Thrombusbildung. Die HDL-Fraktion hat antagonistische Wirkung, sie hemmt diese LDL-Wirkung (187).

Einen interessanten Aspekt lieferten die Untersuchungen von Goldstein et al. (73, 74, 75) und Brown et al. (29), die zeigten, daß die zelluläre Cholesterinsynthese durch Rezeptoren geregelt wird. Die Apolipoprotein-B-tragenden Lipoproteine der Dichteklassen LDL und VLDL werden durch einen spezifischen Rezeptor gebunden und in die Zelle eingeschleust. Die Aktivität des Apo-B-Rezeptors kann sich durch einen negativen Feed-back-Mechanismus selbst regulieren. Dadurch wird die Zelle vor einer Überflutung mit von außen angebotenen Cholesterin bewahrt (215). Dieser Regelmechanismus betrifft vor allem die glatten Muskelzellen, deren Rolle in der Pathogenese der Arteriosklerose diskutiert wird. Goldstein und Brown fanden nun bei der familiären Hyperlipoproteinämie vom Typ II, daß die LDL-Rezeptoren bei heterozygoten Individuen auf die Hälfte ihrer normalen Menge vermindert sind und bei Homozygoten sogar ganz fehlen.

2.5.3. Häodynamische Theorie

Die Rolle des häodynamischen Parameters Blutdruck kommt in der Tatsache zum Ausdruck, daß unter den gleichen Voraussetzungen sklerotische Wandprozesse in den Niederdruckgefäßen - Venen des großen Kreislaufs und Pulmonalgefäße ohne manifeste pulmonale Hypertonie - praktisch nicht auftreten. Herrscht in diesen physiologischen Niederdrucksystemen dagegen ein erhöhter Druck - z.B. bei Mitralstenose -, so zeigen sich auch in diesen Gefäßprovinzen arteriosklerotische Veränderungen.

Das klassische Beispiel für die Druckabhängigkeit der arteriosklerotischen Wandveränderungen bietet die Aortenisthmusstenose. Der proximale, vor der Stenose gelegene Aortenteil, in dem ein erhöhter Druck herrscht, ist dann arteriosklerotisch verändert, wohingegen der distale Abschnitt, jenseits der Stenose, mit seinen normalen oder erniedrigten Druckverhältnissen keine solchen pathologischen Veränderungen erkennen läßt (105, 210).

Es ist seit langem bekannt, daß sich arteriosklerotische Plaques bevorzugt an besonderen Stellen des Gefäßsystems entwickeln. Diese sogenannten Prädispositionsstellen zeichnen sich praktisch immer durch relativ hohe Scherkräfte aus. Dies führte zu der Hypothese der Wandschubspannung ("wall-shear-stress").

Fry untersuchte den Einfluß der hämodynamischen Scherkräfte auf die Integrität des Endothels (35, 66, 67). Er nahm an, daß die Deformation, Schwellung und Erosion des Endothels an den Stellen auftritt, an denen besonders hohe Scherkräfte auf die Gefäßwand wirken. Bei in-vivo-Experimenten mit Schubspannungen von durchschnittlich 380 dynes/cm^2 sah er umgrenzte Veränderungen der endothelialen Oberfläche. Bei späteren Untersuchungen mit weit niedrigeren Schubspannungen fand er einen verstärkten Albumin-Influx in die Intima, was mit der mehrmals beobachteten gesteigerten Wandpermeabilität und dem Lipoprotein-Einstrom in Zusammenhang stehen könnte.

Im Gegensatz dazu vertreten Caro et al. die "Theorie der niederen Schubspannung", die hauptsächlich auf dem Eflux von Cholesterin aus der Gefäßwand in das Gefäßlumen beruht (35, 78). Die Ursache für einen geringeren Chole-

sterin-Efflux in den Gebieten niedriger Schubspannung sehen sie in einem verminderten Konzentrationsgradienten.

Aber nicht nur das Endothel wird durch hämodynamische Faktoren beeinflusst, sondern auch die Thrombozyten. Bei niedrigen Schergeschwindigkeiten haben die Blutplättchen nur eine geringe Tendenz zur Adhärenz, wohingegen sich bei hohen Schergeschwindigkeiten eine signifikant erhöhte Plättchenreaktivität findet (78, 197, 225, 272). Es kann zur Aggregation und "release reaction", später zur Lyse und Fragmentation der Thrombozyten kommen (28). Diese Reaktionen sind abhängig von der Expositionszeit (43).

Mitchell und Schwartz (174) nahmen an, daß im Bereich von Turbulenzen die Thrombozyten und andere Blutpartikel zur Aggregation gebracht würden und so murale Thromben oder gar Plaques entstehen könnten. Die gebildeten Aggregate würden dann verstärkt auf die Gefäßwand zugedrängt und könnten schließlich nach ihrer Adhäsion den initialen Prozeß einer Arteriosklerose darstellen.

2.5.4. Theorie der unspezifischen Mesenchymreaktion

Hauss et al. (91, 92, 93) sehen in der pathologischen Mesenchymreaktion das Basisgeschehen für den Beginn eines sklerotischen Wandprozesses. Die Mesenchymzelle reagiert empfindlich auf eine große Anzahl heterogener, exogener sowie endogener Faktoren. Diese sklerogenen Noxen bewirken unmittelbar eine Veränderung sowohl des Leistungs- als auch des Teilungsstoffwechsels der Mesenchymzellen.

Der Stoffwechsel der Arterien zeigt einen deutlichen Alterstrend und zwar im Sinne einer Verlangsamung der Synthesevorgänge, wie z.B. der Mukopolysaccharide (Proteoglykane). Im Tierexperiment konnten die Autoren nachweisen, daß im Gegensatz dazu in arteriosklerotisch veränderten Gefäßen eine Akzeleration des Gefäßwandstoffwechsels stattfindet. Im Mesenchym der untersuchten Arterien kam es zu einer echten Zellproliferation, zum einen durch die Reduplikation der wandständigen mesenchymalen Zellen, zum anderen durch das Einwandern von mononukleären Rundzellen, die sich im hämatopoetischen System geteilt haben, in das Blut ausgeschwemmt wurden und in die Gefäßwand eingewandert sind. Der Vorgang ist ganz ähnlich wie bei einer Entzündung.

Diese unspezifische Mesenchymreaktion führt unmittelbar zu den bekannten Frühveränderungen der Arteriosklerose, wie Intimaödem, Hyalinose, Fibrose und Verkalkung. Sie führt durch Veränderung der Endothelzellen - Zellnekrosen - über Lücken an der Intimaoberfläche zum Kontakt zwischen strömendem Blut und Kollagen der subendothelialen Schicht und damit zu Thrombozytenadhäsionen und Thrombose. Außerdem führen Verformungen und Verlegungen der betroffenen "Transitstrecken" zu Retention perfundierter, vor allem hochmolekularer Substanzen wie Lipoproteine und Fibrinogen und damit zur Lipidose, Fibrinose und bei exzessivem Ausmaß zu Zellnekrosen der Gefäßwand.

2.5.5. Virale Theorie

Burch sieht als initiales Geschehen der Atherogenese eine Infektion der Arterienwand durch Viren mit nach-

folgender Plättchenanlagerung, Fibrinthrombusbildung und Endothelproliferation (30). Arterieninfektionen und -schädigungen konnte er nachweisen für Pikorna-Viren, Coxsackie-Viren - insbesondere für die Typen B1 und B4 - und das Enzephalomyokarditis-Virus.

Desgleichen beschreiben Minick et al. bei hyper- und normocholesterinämischen Hühnchen nach Infektion mit einem Virus der Herpesgruppe (Marek's disease herpesvirus; Neurolymphomatose) Schädigungen, die der menschlichen Arteriosklerose ähnlich waren. Sie sahen Bezirke mit Medianekrosen und lymphozytäre Infiltrate, häufig mit lipidbeladenen Schaumzellen. Die darüberliegende Media und das Endothel fanden sie unverändert (171).

2.5.6. Monoklonale Theorie

Benditt et al. stellten die "monoklonale Atherogenesetheorie" auf, wonach jede arteriosklerotische Läsion von einer genetisch transformierten glatten Gefäßwand-muskelzelle abstammen soll. Sie nehmen an, daß monoklonale Zellverbände am Anfang des Arterioskleroseprozesses stehen und ziehen aufgrund übereinstimmender Muster von A- und B-Isoenzymen der x-chromosomal vererbten Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase den Schluß, daß die Arteriosklerose eine Art benigner Tumor sei. Derartige Enzymmuster finden sich nämlich auch in den glatten Muskelzellen benigner Tumoren (20, 21, 148).

Bei der nach den Untersuchungen von Benditt aufgestellten Drei-Stufen-Hypothese der Atherogenese kommt es im Initialstadium zur Mutation einer Arterienwandzelle, entweder aufgrund genetischer Faktoren oder durch exo-

gene Schädigungen (chemische, virale Mutagene, ionisierende Strahlen). In der zweiten Stufe ermöglichen zusätzliche Faktoren die selektive Vermehrung der proliferationsbereiten, mutierten Zelle. Die dritte Stufe umfaßt die typischen Komplikationen der arteriosklerotischen Gefäßwandläsion wie Degeneration und Ulzeration.

Risikofaktoren haben entweder selbst mutagene Eigenschaften (Zigarettenrauch, fettlösliche Mutagene in Lipoproteinen) oder können durch unspezifische Endothelschädigung die Einschleusung von Mutagenen in die Gefäßwand ermöglichen.

Obwohl die "monoklonale Theorie" zum Teil bestätigt wurde, bleiben einige Vorbehalte dagegen bestehen. Zunächst ist nicht erwiesen, daß es sich bei den von Benditt nachgewiesenen Zellen um mutierte oder transformierte Zellen handelt. Außerdem kann deren Anhäufung in den einzelnen atheromatösen Plaques eine zufällige Folge von abwechselnden proliferativen und degenerativen Prozessen sein. Oder das Überwiegen einer bestimmten Zellpopulation beruht auf einer hohen Teilungsrate derselben. Außerdem könnte der genetische Schaden der Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase mit einer genetischen Information gekoppelt sein, die unter den Bedingungen einer atherosklerotischen Läsion zu erhöhter Proliferation der betroffenen Zelle führt. Schließlich sind atheromatöse Plaques bei Schweinen, die histologisch und histochemisch denen des Menschen weitgehend gleichen, nicht monoklonal (148).

2.5.7. Immunogenesetheorie

Humanpathologie und Tierversuche zeigen, daß eine Vielzahl von Antigenen imstande ist, immunologisch bedingte Gefäßwandveränderungen und -schädigungen herbeizuführen.

Schaffner et al. nehmen daher an, daß gewisse, schon in der Kindheit erlittene und zum Teil immunpathologisch bedingte Arterienläsionen die Entwicklung einer Arteriosklerose in späteren Jahren fördern könnten. Sie wiesen nach, daß Antigen-Antikörper-Reaktionen zur Freisetzung vasoaktiver Substanzen führen können und auf diese Weise die Gefäßwandpermeabilität erhöhen, sowie den Eintritt und die Ablagerung aus dem Blut stammender Lipide begünstigen (231).

Eine andere Theorie besagt, daß zirkulierende Lipoprotein-Antikörper-Komplexe in die Arterienwand eindringen, präzipitieren und eine Akkumulation von Lipiden und Cholesterin hervorrufen. Diese Antilipoproteine bewirken eine Lipolysehemmung der im Blut transportierten Lipide. Dadurch entsteht die von Beaumont beschriebene "autoimmune Hyperlipidämie", welche ihrerseits das arteriosklerotische Geschehen vorantreibt (16, 17).

Ebenfalls immunologische Prozesse, jedoch als Folge "parasymphathischer Regulationsstörungen" spielen bei der von Sunder-Plassmann beschriebenen Atherogenese-Theorie eine Rolle (230). Zentral beteiligte Organe sind dabei der Thymus als primäres Immunzentrum, sowie die Glandulae thyroideae et parathyroideae als den Lipidspiegel beeinflussende, bzw. Calcitonin-produzierende Organe. Sunder-Plassmann belegte seine Ansichten unter anderem durch Versuche an gesunden Kaninchen, wobei es nach Sensibilisierung der Tiere mit sterilem, inak-

tiviertem Schweineserum und nachfolgender Quetschung eines rechtsseitigen Nervus-vagus-Segments zu einem arteriosklerotischen Initialmechanismus der thorakalen Aorta kam: "...frische Insudationen, teils mit Schwellung, teils Nekrose des Endothels und ebenso Reaktionen der glatten Muskulatur...". In diesen Versuchen konnten "...geradezu groteske arteriosklerotische Verkalkungen und Läsionen..." erzielt werden, "...wenn der Parasympathikuseffekt auf Schilddrüse und Thymus mit Depression der Calcitonin-bildenden C-Zellen durch Thiouracil noch potenziert wurde" (230).

2.5.8. Theorie der Proliferation glatter Muskelzellen

Das Vorhandensein glatter Muskelzellen in der Intima von Gefäßwänden hat hinsichtlich ihrer funktionellen Bedeutung und ihres pathogenetischen Gewichts für die Entstehung der Arteriosklerose zu heftigen Kontroversen und Diskussionen geführt.

Nach Mc Gill et al. (165) ist die fibromuskuläre Intimaverdickung ohne Lipideinlagerung ein charakteristisches Kennzeichen der Koronararterien schon beim jüngeren Menschen. In der zweiten Lebensdekade soll die Intima der großen Koronararterien bereits die Dicke der Gefäß-media erreicht haben. Die Intimaverdickung kommt hierbei durch longitudinal ausgerichtete glatte Muskelzellen und kollagene und elastische Fasern zustande. Etwa im gleichen Alter erscheint die Intimaverdickung in der abdominalen Aorta und etwas später auch im thorakalen Abschnitt dieses Gefäßes.

Den ersten Schritt zur Entwicklung einer Arteriosklero-

se sieht Mc Gill dann in einer genetisch programmierten Einlagerung von Lipiden in die glatten Muskelzellen der Gefäßwand (164). Im weiteren Verlauf kommt es zu Proliferation, Nekrose und Entzündung dieser sogenannten "fatty streaks" und schließlich zur Ausbildung fibröser Plaques.

Einen weitgehend ähnlichen atherogenetischen Mechanismus beschreibt die Arbeitsgruppe um Ross. Sie sehen in der Proliferation der glatten Mediamuskelzellen und ihrer Migration in die Intima durch die Lücken der Lamina elastica interna ein Schlüsselereignis in der Pathogenese der arteriosklerotischen Läsion.

Es gelang ihnen nachzuweisen, daß aggregierende Thrombozyten im Rahmen der "release reaction" unter anderem einen Faktor freisetzen, der imstande ist, die glatten Mediamuskelzellen zur Proliferation anzuregen (=platelet mitogenic factor) (32, 88, 201, 204). Es handelt sich dabei um einen nicht dialysablen, hitzestabilen Faktor (258). Haft vermutete, daß es sich dabei um einen Fibroblastenwachstumsfaktor der Hypophyse handeln könnte, wobei die Thrombozyten quasi lediglich als Vehikeldienten (85). Auch Rutherford et al. wiesen nach, daß dieser thrombozytäre Faktor sowohl Fibroblasten als auch glatte Muskelzellen zum Wachstum stimulieren kann (207). Umgekehrt zeigten Wall et al., daß der Fibroblastenwachstumsfaktor der Hypophyse nicht imstande ist, diesen Effekt auf die glatten Muskelzellen auszuüben (258).

Eine erhöhte Wachstumsrate der glatten Muskelzellen der Gefäßwandintima fanden auch Pietilä et al. durch den Nachweis einer gesteigerten Aufnahme von radioaktiv markiertem 3-H-Thymidin (195).

Die ruhende, kontraktile glatte Muskelzelle (k-Myozyt) wird also in eine modifizierte, metabolisch aktivierte Muskelzelle (m-Myozyt) umgewandelt, die folgende morphologische Abweichungen zeigt: ausgeprägtes endoplasmatisches Retikulum, zahlreiche Ribosomen und Mitochondrien, vergrößerter Golgi-Apparat; die spezifischen Charakteristika, wie mikropinozytotische Vesikel, "dense bodies", Myofilamente und die Basalmembran sind in ihrer Größe und Ausdehnung entsprechend vermindert (223). Die ultrastrukturellen Charakteristika sind ein Hinweis auf das augenblickliche funktionelle Stadium der Zellen, das jederzeit sowohl durch exogene als auch durch endogene Einflüsse geändert werden kann. Es bestehen zahlreiche Übergangsformen.

Im folgenden Verlauf kommt es durch die proliferierenden glatten Muskelzellen zur Bildung von Bindegewebsmatrix in dem Bereich der Gefäßwandintima (89, 200, 202, 203). Es finden sich Kollagen, elastische Fasern und Glykosaminoglykane (135), wobei neben anderen ein Glykosaminoglykan speziell hervorzuheben ist, das eine ganz besonders ausgeprägte Neigung hat, Lipoproteine der LDL-Fraktion zu binden, was zu Lipideinlagerungen in die Gefäßwandintima führt (113, 114, 196).

An der Intima sind diese Veränderungen in Form dreier klassischer Typen sichtbar (202) (s.a. 2.4.):

1. Gelbe Fettstreifen (fatty streaks): Es findet sich eine fokale Ansammlung einer relativ kleinen Anzahl von glatten Muskelzellen, die von Fett umgeben sind und auch solches enthalten (Schaumzellen oder foam cells), worauf ihre gelbe Farbe beruht.

2. Fibröse Plaques: Diese erscheinen makroskopisch weißlich und erhaben und ragen gegen das Gefäßlumen vor. Die Erhebung enthält eine örtliche Anhäufung lipidhaltiger glatter Muskelzellen, umgeben von Lipid, Kollagen, elastischen Fasern und Proteoglykanen.
3. Komplizierte Läsionen: Sie werden durch fibröse Plaques dargestellt, die durch komplizierende Blutungen, Verkalkungen und Nekrosen verändert und charakterisiert sind.

Unklar ist dabei das Verhältnis der beiden erstgenannten Veränderungen zueinander und die Rolle der Fettstreifen als Vorläufer der fibrösen Plaques. Einen allgemein akzeptierten Vorläufer der fibrösen Plaques stellt die fibro-muskulo-elastische Intimaläsion dar, die lediglich aus proliferierenden glatten Muskelzellen und umgebendem Bindegewebe besteht, und - im Gegensatz zu fibrösen Plaques - kein oder nur wenig Fett enthält.

2.5.9. Prostaglandintheorie

In letzter Zeit wurde die Bedeutung der Prostaglandine auch für dieses Gebiet der Medizin erkannt.

Aus der Gruppe der Prostaglandine interessiert hier besonders das im Jahre 1976 von Moncada und Mitarbeitern (175) in der Gefäßwand entdeckte Prostazyklin, auch als Prostaglandin I_2 (PGI_2) bezeichnet.

Prostazyklin ist ein Gewebshormon, das vorwiegend in den Ribosomen (175) der Gefäßwand aus Arachidonsäure

(177) synthetisiert wird, wobei die Fähigkeit der Arterienwand, Prostazyklin zu produzieren, im Bereich der intimalen Oberfläche am größten ist und in Richtung Adventitia deutlich abnimmt (176). Wie alle Prostaglandine kann es im Gewebe nicht gespeichert werden, sondern wird unmittelbar nach seiner Bildung freigesetzt. Prostazyklin ist äußerst labil und zerfällt mit einer Halbwertszeit von etwa fünf Minuten bei Zimmertemperatur.

Prostazyklin ist der stärkste aller bekannten Thrombozytenaggregationshemmer (83) und gleichzeitig der stärkste endogene Vasodilatator.

In den Thrombozyten geht der Prostaglandin-Syntheseweg in eine andere Richtung. Die Blutplättchen sind nicht in der Lage, Prostazyklin zu bilden, sondern synthetisieren aus den zyklischen Endoperoxiden das Thromboxan A_2 (TXA_2). Thromboxan A_2 ist ebenfalls äußerst instabil, die Halbwertszeit ist mit zirka 32 s noch kürzer als die von Prostazyklin.

Thromboxan A_2 hat dem Prostazyklin physiologisch völlig konträre Wirkungen. Es fördert die Thrombozytenaggregation und ist darüber hinaus ein starker Vasokonstriktor.

Mit der Entdeckung des Prostazyklins ist ein wesentlicher Faktor, der für die Athrombogenität des Endothels verantwortlich ist, offenkundig geworden (54, 133). Normalerweise wird Prostazyklin laufend vom Endothel freigesetzt und verhindert dadurch die Bildung von Thrombozytenaggregaten an der Gefäßwand, ja kann sogar (zumindest in vitro) bereits bestehende Aggregate und Thromben wieder auflösen. Die Thrombozytenadhäsion wird allerdings erst bei unphysiologisch hohen Prostazyklin-

dosen gehemmt, was den Schluß zuläßt, daß die Abdeckung kleinerer, geringgradiger Endothelläsionen durch adhärierende Thrombozyten durch das Prostazyklin-System nicht beeinflußt werden soll. Die Gefäßwand schützt sich jedoch mit Prostazyklin gegen eine unkontrollierte, überschießende Thrombozytenaggregation, die zu einer massiven parietalen Plättchenthrombusbildung mit hochgradiger Einengung des Gefäßlumens oder sogar totalem Verschuß (bzw. in der Mikrozirkulation zur Thrombozytenembolie) führen könnte.

Der aggregationshemmende Effekt wird erreicht (133), indem sich Prostazyklin an spezifische Rezeptoren der Thrombozyten bindet. Als Folge kommt es durch eine Aktivierung des intrazellulären Enzyms Adenylzyklase zu einem Anstieg der Konzentration von zyklischem AMP im Thrombozyten, was seine Aggregationsbereitschaft unterdrückt. Außerdem hemmt Prostazyklin die Thromboxansynthese.

Wie bereits erwähnt, geht in den Thrombozyten der funktionell wichtigste Weg der Prostaglandinsynthese in Richtung auf die Entstehung von Thromboxan A_2 . Dieser Arachidonsäure-Metabolit senkt den Gehalt an zyklischem AMP und fördert somit die Thrombozytenaggregation. Bei einer Plättchenaktivierung wird die Thromboxansynthese meist stimuliert. Es sind allerdings Substanzen (z.B. Kollagen) bekannt, die in vitro die Thrombozytenaggregation bewirken, ohne daß es dabei zu einer Thromboxanbildung kommt.

Nach Best et al. (22) ist die Aggregation somit nicht unbedingt mit einer Thromboxansynthese gleichzusetzen, sondern wird wahrscheinlich durch dieses System moduliert. Der Sinn der Thromboxansynthese scheint jedoch

der zu sein, bei stärkeren Endothelschädigungen die Bildung eines Plättchenthrombus zu forcieren und eine Vasokonstriktion zu erzielen. Dieser Mechanismus scheint, ebenso wie eine Art Balance zwischen der Bildung von Prostazyklin und Thromboxan A_2 , für die Aufrechterhaltung der Hämostase von entscheidender physiologischer Bedeutung zu sein.

In der Pathogenese arteriosklerotischer Gefäßerkrankungen spielt möglicherweise ein Prostazyklinmangel eine wesentliche Rolle. Die Hypothese von Gryglewski et al., daß eine vermehrte Konzentration von Lipoperoxiden in der Gefäßwand und im Plasma die Prostazyklinbildung im Endothel hemmt und somit die Arterioskleroseentstehung fördert, ist bislang noch nicht wissenschaftlich belegt (54).

Aus tierexperimentellen Atherosklerosemodellen, aber auch von Untersuchungen am Menschen ist bekannt, daß im atherosklerotischen Plaque in den verschiedensten Gefäßprovinzen signifikant weniger Prostazyklin gebildet wird als in gesunden Gefäßen (224). Ferner haben vergleichende Untersuchungen gezeigt, daß Spezies mit hoher Prostazyklinsyntheserate (z.B. die Ratte) resistenter gegen die Entstehung von atherosklerotischen Gefäßveränderungen sind im Vergleich zu Tierarten (z.B. das Schwein), die signifikant weniger Prostazyklin produzieren. Auch beim Menschen liegt eine relativ niedrige Prostazyklinsyntheserate vor (54).

Eindrucksvolle klinische Untersuchungen haben gezeigt, daß die Prostazyklinbildung auch bei einer Reihe von Erkrankungen vermindert ist, die als Risikofaktoren für die Entstehung der Arteriosklerose anzusehen sind. Die Prostazyklinbildung ist vermindert bei Hypertonie, Hy-

perlipoproteinämien, Claudicatio intermittens und bei Nikotinabusus (133, 224). Bei Patienten mit Diabetes mellitus weisen die Thrombozyten überdies eine verstärkte Thromboxansynthese auf (219). Die sich dadurch ergebende verstärkte Thrombozytenaggregationsneigung hat zur Folge, daß die Blutplättchen im Rahmen dieser Ablagerung vermehrt einen Faktor an die benachbarte Gefäßwand abgeben, der die Proliferation von glatten Muskelzellen massiv fördert (204) (s.o.). Diese proliferativen Vorgänge führen zu einer Verdickung der Gefäßintima und Verschlechterung der nutritiven Versorgung der Gefäßwand. Dadurch wird - wieder im Sinne eines Circulus vitiosus - die Muskelzellproliferation stimuliert. Somit kann die Thrombozytenablagerung zu Gefäßwandveränderungen führen, die eine Frühphase der Arteriosklerose darstellen.

2.5.10. Abscheidungstheorien

Die Vertreter der sogenannten Abscheidungstheorien sehen die Adhäsionen von Elementen des strömenden Blutes auf der Gefäßinnenwand (z.B. Fibrin und Blutplättchen) als die primäre Störung an.

2.5.10.1. Fibrin

Kadish stellt eine ineffektive Fibrinolyse als Hauptursache für eine Arterioskleroseentstehung in den Vordergrund (115). Diese verminderte fibrinolytische Aktivität kann ihre Ursachen in den bekannten Risikofaktoren haben.

Wandständiges Fibrin führt zu einer Umorganisation des Endothels: Die Zellen weichen auseinander, bilden zahlreiche Pseudopodien und beginnen zu wandern. Diese Veränderungen können als Herd für weitere Fibrinablagerungen und Thrombozytenadhäsionen wirken, sind aber bei Entfernung des Fibrins, d.h. Fibrinolyse, reversibel (124).

Bei inadäquater Fibrinolyse jedoch können entstehende Ablagerungen das Endothel lädieren und zu arteriosklerotischen Plaques führen. Ein solches desorganisiertes Endothel stellt keine effektive Barriere für Plasmabestandteile, die sich normalerweise außerhalb der Gefäßwand befinden, mehr dar.

2.5.10.2. Thrombozyten ^A eigene Theorie

Nachdem zunächst der Fibrinausfall als Ursache für eine Arterioskleroseentstehung angeschuldigt wurde, weist insbesondere die eigene Arbeitsgruppe den Blutplättchen eine Schlüsselposition zu.

Die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit basieren auf der Theorie zur Pathogenese obliterierender Angiopathien, die von Hess (98, 99, 102, 103), Frost (64, 65) und Marshall (151, 152, 154, 158) entwickelt und vielfach belegt wurde.

Aufgrund ihrer Ergebnisse sehen die oben Genannten den entscheidenden Mechanismus in der frühen Pathogenese aller stenosierenden, obliterierenden Angiopathien in einer gestörten Interaktion zwischen Gefäßwand und strömendem Blut, wobei dem Adhärenwerden von Thrombo-

zyten auf dem Arterienendothel eine Schlüsselstellung in der Initialphase zuzukommen scheint.

Die meisten bisherigen Theorien richten ihren Blick oft einseitig makroskopisch auf und mikroskopisch in die Gefäßwand und berücksichtigen nicht genügend, daß Blutgefäß und strömendes Blut eine Funktionseinheit sind. Sie sind eine Einheit nicht nur im Hinblick auf ihre Aufgabe als Transportorgan für die Bedürfnisse des Stoffwechsels der Gewebe, sondern auch existenziell.

Nativblut bleibt nur flüssig, solange es in einem intakten Blutgefäß fließt, und umgekehrt bleibt ein Blutgefäß nur intakt, solange Blut darin strömt. Es ist eine Leistung der Gefäßwand, daß das zirkulierende Blut ständig flüssig bleibt, wie es eine Aufgabe des Blutes ist, die Gefäßwand intakt zu halten (199). Physiologischerweise ist diese Gefäßwand-Blut-Homöostase gegeben. Pathologischerweise kann sie nach zwei Richtungen hin gestört sein.

Minusvarianten dieser Störung sind die verschiedenen Blutungsübel, bei denen das Blut seine Aufgabe als Protektor der Integrität der Gefäßwand nicht mehr ausreichend zu leisten vermag, weil entweder das Gerinnungssystem nicht intakt ist oder die Thrombozyten in ihrer Zahl kritisch vermindert bzw. in ihrer Funktionsfähigkeit gestört sind.

Bei den Plusvarianten wird die Gefäßwand-Blut-Homöostase durch eine Hyperkoagulabilität des Blutes und vor allem durch eine pathologisch erhöhte Zahl der Thrombozyten bzw. durch Steigerung der Aggregations- und Adhäsionsbereitschaft derselben gestört (102).

Die Theorie, die jetzt vorgestellt werden soll, sieht in den verschiedenen obliterierenden Arteriopathien Plus-

varianten einer gestörten Gefäßwand-Blut-Homöostase und im Thrombozyten die Schlüsselfigur in der Pathogenese dieser Krankheiten. Der normale Thrombozyt ist im strömenden Blut ein ellipsoides Körperchen mit einem Durchmesser von 1-2 μm . In dieser Form, die man auch Ruheform nennen kann, hat er keine Tendenz, mit anderen Thrombozyten bzw. mit anderen Blutkörperchen zu aggregieren oder auf intaktem Gefäßendothel adhärent zu werden.

Der Thrombozyt ist aber eine empfindliche Struktur (27), die zum Teil auf dieselben physiologischen Reize reagiert, wie die glatte Muskelzelle. Über die physiologische Bedeutung der Ansprechbarkeit der Thrombozyten auf Katecholamine, Serotonin, Histamin, Adenylverbindungen und Prostaglandine ist bisher noch recht wenig bekannt.

Sicher ist nur, daß der Thrombozyt durch diese physiologischen Stoffe und eine Reihe pathologischer Reize so verändert werden kann, daß er klebrig wird (visköse Metamorphose). In diesem "gereizten" Zustand nimmt der Thrombozyt Kugelform an und entwickelt dünne Fortsätze, sogenannte Pseudopodien, mit denen er mit anderen Thrombozyten Aggregate bilden oder am - auch intakten oder zumindest zusammenhängenden - Gefäßendothel und an anderen Oberflächen festhaften kann.

Es ist eine wichtige physiologische Aufgabe vor allem der Blutplättchen, Gefäßwanddefekte zu reparieren. Im Bereich eines Endotheldefekts wirkt das subendotheliale Kollagen oder eine Vorstufe davon als adäquater Reiz für das selektive Anhaften von vorbeiströmenden Thrombozyten, die den Defekt augenblicklich abdecken (65). Im Verlauf der Plättchenadhäsion am Endothel werden die Thrombozytenorganellen aktiv entspeichert ("release reaction") (31). Dabei kommt es zur Freisetzung einer gro-

Ben Anzahl hochwirksamer Substanzen, wie ADP, Serotonin, Histamin, Adrenalin, Fibrinogen, Calciumionen, Plättchenfaktor 3 u.a., von denen einige die Endothelpermeabilität erhöhen - permeability factor(s) (79, 183, 184, 185) - oder zur Proliferation glatter Muskelzellen führen - platelet mitogenic factor (85, 204). Außerdem kommt es zur Freisetzung von Lipoprotein-Lipase aus Endothelzellen am Ort der Thrombozytenadhäsion (1, 146).

Mit fortschreitender Metamorphose fließen die Thrombozyten auseinander und ineinander und bilden dann einen flachen Belag, der offenbar gleich das Material für die endgültige Restitution der Gefäßwandbeschädigung ist. Sobald der Wanddefekt abgedeckt ist, hört die Reizwirkung auf die vorbeiströmenden Thrombozyten auf. Die Gefäßwand-Blut-Homöostase ist wiederhergestellt.

Die sicherlich häufig vorkommenden Mikroläsionen der Gefäßwand, die auf die geschilderte Weise durch Thrombozyten repariert werden, heilen offensichtlich ad integrum, d.h., die Thrombozyten werden spurlos in das Gefäßendothel aufgenommen.

Dies und die Tatsache, daß es bei Thrombozytopenien oder -pathien zu Störungen der Gefäßpermeabilität kommt, sprechen dafür, daß die Thrombozyten integraler Bestandteil der intakten Gefäßwand sind. Man könnte sagen, die Blutplättchen sind die mobile Phase der Gefäßwand, in die sie bei Bedarf jederzeit stationär eingehen können.

An größeren Gefäßläsionen kommt es zunächst zu einem mehr oder weniger überschießenden Plättchenthrombus, der aber in der Regel rasch wieder fortgespült wird. Wenn dies nicht geschieht, weil der Reiz zur Adhäsion und Aggregation von Blutplättchen an dieser Stelle

nicht rasch genug aufhörte oder sich wiederholte, kann der überschießende Plättchenthrombus bestehen bleiben, sekundäre Gerinnungsvorgänge provozieren, (- auch andere Blutbestandteile wie Erythrozyten, Leukozyten und Fibrin werden adhärent -) und damit zu einem gemischten Parietalthrombus werden, der zur Stenosierung oder sogar zum Verschuß des Gefäßes führt. Bei Lipidstoffwechselstörungen kann es auch zu einer Fettanlagerung kommen, wie dies zuerst durch die Untersuchungen von Sinapius an Koronararterien gezeigt wurde (220). Mikroparietalthromben und größere Thromben können schließlich mit Endothel überzogen und so in die Gefäßwand inkorporiert werden.

Im Tierexperiment am Miniaturschwein konnten nach Einwirken eines "Angiopathiereizes", z.B. Cholesterinfütterung, schon nach wenigen Tagen Thrombozytenadhäsionen auf dem - sonst oberflächlich weitgehend unauffälligen - Endothel verschiedener Arterien gefunden werden. Nach zwei Wochen dieser Kost waren neben Thrombozyten auch Fibrin und darin eingeschlossen Erythrozyten, also gemischte Mikroparietalthromben auf der Gefäßinnenwand zu sehen, die zu diesem Zeitpunkt zusammen mit Fetttropfen auch mit der lichtmikroskopischen Technik nachweisbar wurden.

Gefäßwandabscheidungen wirken wie Fremdkörper, auf die der Organismus mit lokalen mesenchymalen Reaktionen antwortet. Mesenchymale Reaktionen können aber auch primäre Antwort auf den Reiz des Risikofaktors (92) sein, weil, wie anfangs bereits betont, glatte Muskelzellen und Thrombozyten zum Teil auf die gleichen Reize reagieren. Gefäßwandabscheidungen und primäre oder sekundäre mesenchymale Reaktionen führen schließlich zum Vollbild eines arteriosklerotischen Plaques (102, 103).

Physiologische und pathologische Reize können zum Anhaften von Thrombozyten an der Gefäßinnenwand führen:

- Einwirken der Gefäßwand auf die vorbeiströmenden Blutplättchen
- primäre Veränderungen der Blutplättchen
- primäre Veränderungen des Blutmilieus, was die Thrombozyten sekundär in ihre Reizform bringt
- die Biophysik der Blutströmung

Thrombozyten aggregieren nämlich umso stärker, je höheren Schubspannungen sie ausgesetzt sind. Die Schubspannungen sind in Arterien wesentlich höher als in Venen, in denen das Blut viel langsamer strömt. Damit kann erklärt werden, warum obliterierende Angiopathien in der Mehrzahl der Fälle auf Arterien begrenzt bleiben, auch wenn disponierende biochemische Veränderungen in gleichem Ausmaß im Venenblut bestehen. Wo Strömung turbulent wird, sind die Schubspannungen besonders hoch. Dies ist an Gefäßabgängen der Fall, die auch die Prädiaktionsorte stenosierender Gefäßprozesse sind.

Es muß also die primäre Schädigung der Gefäßwand und die damit verbundene Freilegung von subendothelialen Kollagenschichten nicht unbedingt im Vordergrund stehen, sondern es gibt eine ganze Reihe von Auslösefaktoren, welche Thrombozyten in ihre hochreaktive Reizform überführen und an der Gefäßwand adhärent werden lassen. Diese Faktoren entsprechen den Risikofaktoren für obliterierende Angiopathien (102).

Die Tatsache, daß inhalierendes Rauchen ebenso wie pathologische Blutfette und andere Risikofaktoren jahre- und jahrzehntelang toleriert werden, ohne daß es zu einer klinisch nachweisbaren Angiopathie kommt, wird aus dem, was eingangs über den Thrombozyten als physiologi-

schen, integralen Bestandteil der Gefäßwand gesagt wurde, verständlich. Auch pathologisch bewirkte Thrombozytenadhäsionen vermag die Gefäßwand offenbar über lange Zeit zu integrieren. Wenn aber die Toleranzgrenze überschritten wird, weil entweder die Reizwirkung auf die Thrombozyten nach Stärke, Dauer oder Frequenz zu intensiv ist, oder die Thrombozyten primär eine erhöhte Reizbarkeit haben bzw. pathologisch vermehrt sind, kommt es zu ähnlichen Abläufen, wie sie im Cholesterinfütterungsmodell am Miniaturschwein gezeigt wurden.

Versteht man die Pathogenese aller obliterierender Arteriopathien nicht mehr ausschließlich als primäre Schädigung der Gefäßwand, sondern als Resultat einer gestörten Beziehung zwischen Gefäßwand und dem strömenden Blut unter besonderer Berücksichtigung der Thrombozyten, dann ergeben sich aus dieser erweiterten pathogenetischen Vorstellung sofort neue Ansätze für eine kausale Prophylaxe und Therapie dieser Erkrankungen. Aus dieser Sicht ist es von Vorteil, die Stadien der obliterierenden Angiopathien nicht nur nach der klinischen Symptomatik, sondern auch nach dem Zustand der Funktionseinheit Gefäßwand und Blut zu beschreiben (102).

- Das Stadium der potentiellen Arteriopathie ist nur durch das Vorhandensein und Wirken von Risikofaktoren gekennzeichnet, die den Thrombozyten in seine Reizform überführen können.
- Im Stadium nascendi der Angiopathien kommt es zu den ersten Thrombozytenadhäsionen, die sich dann in der gezeigten Weise bis zur obliterierenden Thrombose fortentwickeln können.
- Das Stadium der irreversiblen obliterierenden Arteriopathien ist durch Inkorporation und Organisation der intravasalen Thrombose gekennzeichnet.

2.6. Spezielle Fragestellung der vorliegenden Arbeit im Rahmen der früheren Versuche der eigenen Arbeitsgruppe

2.6.1. Frühere Versuche:

Ausgehend von einer sorgfältigen Analyse der Tiermodelle zur Arterioskleroseforschung entschied sich die eigene Arbeitsgruppe bereits im Jahre 1967 für das Miniaturschwein für ihre Forschungen über die initiale und frühe formale Pathogenese obliterierender Angiopathien, bzw. der Arteriosklerose. Der entscheidende Vorteil des Schweins in diesem Zusammenhang war seine außergewöhnlich gute Übereinstimmung in einer Vielzahl physiologischer und biochemischer Parameter mit dem Menschen, was auch durch vielfältige eigene Untersuchungen belegt wurde (149, 150) (s.a. 2.3.5. und 2.3.6.).

Mit Hilfe des Rasterelektronenmikroskops konnten Hess (98, 99, 102, 103), Frost (64, 65) und Marshall (151, 152, 154, 158) an Kaninchen zeigen, daß lokal und systemisch einwirkende Angiopathiereize, die modellhaft Arterioskleroserisikofaktoren des Menschen nachahmen sollten, mit hoher Reproduzierbarkeit zunächst nur Adhäsionen von Thrombozyten auf einem zusammenhängenden und oberflächlich weitgehend intakt erscheinenden Arterienendothel hervorriefen. Dabei wurde - wie aus Tabelle 2 ersichtlich - eine ganze Reihe teils lokal teils systemisch einwirkender Angiopathiereize untersucht (Tabelle 2). Wirkten die Reize längere Zeit ein, so kam es zu Intimaverdickungen, Ausbildung von Mikroparietalthromben aus Fibrin und Thrombozyten auf dem Endo-

thel und innerhalb von ca. 6 Monaten zur Entwicklung einer fetthaltigen Intimaplaque. Bei mehreren dieser Angiopathiereize konnte eine erhöhte Thrombozytenaggregationsneigung nachgewiesen werden (149).

Tabelle 2: Die wesentlichen bislang erprobten Angiopathiemodelle ($\emptyset$ =unwirksam) (151)

A. lokal einwirkend (von außen an der freigelegten Arterie)

1. Eisreiz ("Kälteangiitis")
2. Adrenalinreiz
3. Stromstoß u.a.

B. systemisch einwirkend (exogene Reize und endogene Einwirkungen)

1. Infusion von Adrenalin oder Noradrenalin $\emptyset$
 2. Inhalation von Zigarettenrauch
 3. Inhalation von Kohlenmonoxid-Luft-Gemischen
 4. Infusion von Fettsäuren
 5. Cholesterinfütterung
 6. Hypothyreose $\emptyset$
 7. Diabetes mellitus (streptozotozininduziert)
 8. Saccharosefütterung $\emptyset$
 9. Hypertonie
 10. Nikotininfusion
-

In Bezug auf die spezielle Fragestellung der vorliegenden Arbeit soll lediglich auf die Untersuchungen über

das Zigarettenrauchen als Arterioskleroserisikofaktor und hierbei besonders auf die initialen Auswirkungen von Zigarettenrauch (und auch dessen Bestandteile Kohlenmonoxid und Nikotin) auf Blutrheologie, Thrombozytenfunktion und Arterienendothel näher eingegangen werden (156, 158, 194).

Bisher wurden die Inhalationsversuche an 26 Hanford-Miniaturschweinen ausgewertet. Ihr mittleres Gewicht betrug $40,4 \pm 14,3$ kg (durchschnittliches Alter 6 Monate). Die nicht anästhesierten Tiere wurden nach mehrtägigem Gewöhnungstraining in einer teilweise durchsichtigen Rauchkammer ($0,473 \text{ m}^3$) mittels Rauchmaschine erzeugtem Zigarettenhauptstromrauch oder - zur Abgrenzung der reinen Kohlenmonoxidwirkungen - synthetischer Luft mit 150, 200 oder 500 ppm CO ausgesetzt. Bei den Versuchen mit Zigarettenrauch wurde die Rauchkammer von unten belüftet. Bei den CO-Versuchen war sie bis auf das Zu- und Ableitungssystem völlig abgedichtet; dabei wurde sie zunächst über 15 min mit 30 l/min und dann konstant mit 6 l/min des jeweiligen CO-Luft-Gemisches durchströmt. Die tägliche Expositionsdauer betrug üblicherweise vier Stunden, die Gesamtdauer des Experiments zwischen 1 und 8 Tagen bei den CO-Versuchen, bzw. zwischen 1 und 16 Tagen bei den Zigarettenrauchversuchen. Die Gefäßentnahmen (A. carotis, A. femoralis, R. interventricularis der A. coronaria sinistra) erfolgten in Metomidat-Azaperon-Anästhesie (siehe 3.2.2.), z.T. nach Fixierung in situ unter arteriellem Druck. Nach dem Gewöhnungstraining wurden in einem Teil der Fälle Vergleichsgefäße nach exakt imitierenden Leerversuchen entnommen.

Bei den Versuchen mit Zigarettenrauch wurden maximale CO-Konzentrationen von 80 ppm oben in der Rauchkammer

erreicht. Bei den CO-Luft-Gemischen wurden nach vier Stunden Werte um 80% der zugeführten CO-Konzentrationen erreicht. Die CO₂-Konzentration lag gegen Versuchsende im Mittel bei 2,5 Vol% (Dräger-Gasspürgerät).

Die höchsten COHb-Werte unter Zigarettenrauch erreichten 5% (immer Doppelbestimmung nach der Methode von Sachs u. verschiedene Vergleichsbestimmungen) (siehe 3.4.3.). Werte um 10% COHb wurden mit CO-Luft-Gemischen bis 200 ppm CO erreicht, also einem mäßig starken Raucher entsprechend. Zu Werten um 35% führten Gemische mit 500 ppm CO, einer milden CO-Vergiftung entsprechend.

Die Plättchenaggregationsneigung (PAT I nach Breddin in eigener Modifikation (Marshall, M. et al., 1976)) stieg in den Versuchen mit CO-Exposition bis 200 ppm und mit 500 ppm um eine Stufe an. Unter Zigarettenrauch fand sich ein Anstieg um eine halbe bzw. eine ganze Stufe.

Zu einem mittleren Anstieg der Blutviskosität (um 22%) und des Hämatokrits (um 5,5%) kam es unter Zigarettenrauchexposition, nicht dagegen unter CO-Exposition bis 200 ppm. Bei 500 ppm CO fand sich jedoch ein deutlicher Anstieg von Hämatokrit, sowie Blut- und Plasmaviskosität. Intravenöse Infusion von im Mittel 0,05 mg Nikotin kg⁻¹ in einer Minute führte zu einem Anstieg von Hämatokrit, Blut- und Plasmaviskosität und der Plättchenaggregationsneigung; (der relative Anstieg der Blutviskosität war um so ausgeprägter, je niedriger die Scherrate war).

Wurde Druckluft anstelle von Zigarettenrauch und Kohlenmonoxid verwendet, kam es zu keinen signifikanten Änderungen all dieser Parameter.

Ebenso waren bei der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung sorgfältig präparierter Vergleichsarterien keine Elemente des strömenden Blutes auf dem völlig unauffälligen Endothel nachweisbar. Nach Exposition gegenüber Zigarettenrauch (in einem Fall bereits nach fünf Stunden) oder CO-Luft-Gemischen mit COHb-Werten entsprechend einem mäßig starken Raucher waren häufig typische Thrombozytenadhäsionen - in visköser Metamorphose - auf dem oberflächlich nicht eindeutig veränderten Endothel nachweisbar. Besonders bei den Versuchen mit hohen CO-Konzentrationen, die immer vier Tage dauerten, fanden sich mehrmals fortgeschrittene Veränderungen mit dichten, mehrschichtigen Thrombozytenauflagerungen und Fibrinabscheidungen - also gemischte Mikroparietalthromben.

2.6.2. Eigene Versuche:

In einer zweiten Stufe unseres Versuchsprogramms sollten nur die initialsten Veränderungen nach ganz kurzzeitigen Expositionen gegenüber den Noxen Zigarettenrauch und Kohlenmonoxid interessieren.

Da das Schwein zur Spontanarteriosklerose neigt, verwendeten wir diesmal nur ganz junge 3-4 Monate alte Tiere mit einem Durchschnittsgewicht von 15 kg. Um die Ausgangsbedingungen noch weiter zu vereinheitlichen und auch eventuelle hormonale Einflüsse von vorneherein auszuschließen, wählten wir nur männliche und unkastrierte Minischweine. Immer vormittags und nüchtern wurde den nichtnarkotisierten Tieren jeweils einmal - vier Stunden lang - Zigarettenrauch, 200 ppm CO in synthetischer Luft oder Raumluft (als Kontrollversuche) zugeführt.

Gegen die Verwendung der früheren Rauchkammer bestanden prinzipielle Bedenken; daher wurden die verschiedenen Inhalate in der zweiten Stufe über eine möglichst dicht-abschließende Maske zugeführt. Störende Faktoren, wie Engegefühl in der Kammer, Augenreizungen durch den Zigarettenrauch und zusätzliche Hautresorption von Nikotin wurden dadurch weitestgehend vermieden. Ein weiterer Vorteil war, daß die Tiere während der Versuche - allerdings eingeeengt - in ihren gewohnten Käfigen belassen werden konnten. Zur Zigarettenraucherzeugung wurde eine vollautomatische Rauchmaschine des INBIFO (Institut für biologische Forschung, Köln) benutzt. Abgeraucht wurde die Einheitszigarette E76 (14,3 mg Kondensat, 0,9 mg Nikotin). Die Zigarettenrauchzumischung wurde so eingestellt, daß die CO-Konzentration im Zuführungsschlauch (der Maske) zwischen 180 und 200 ppm betrug.

An humoralen Blutparametern wurden jeweils vor und nach den Rauchversuchen Hämatokrit, Erythrozytenfiltrationsrate, Fibrinogen, Blut- und Plasmaphysikosität, Thrombozytenzahl, Plättchenaggregationsneigung und Plättchenadhäsion bestimmt (siehe auch unter 3.4.1. und 3.4.2.)

Unmittelbar im Anschluß an die Versuche wurde den Tieren je ein Stück der A. carotis, A. femoralis, des Ramus interventricularis der A. coronaria sinistra und der Aorta abdominalis für die rasterelektronenmikroskopischen und diesmal auch transmissionselektronenmikroskopischen Untersuchungen entnommen (Gefäßpräparationen, siehe 3.2.5.).

Die vorliegende Arbeit berichtet über die Inhalationsversuche mit Zigarettenrauch (194).

3. MATERIAL UND METHODODIK

3.1. Versuchstiere

Als Versuchstiere verwendeten wir Hanford-Miniaturschweine, die im Institut für Tierhygiene der Universität München (Vorstand Prof. Dr. Kalich) gezüchtet wurden (Kalich, Krumbacher, Ruf).

Es wurden Versuche an 14 männlichen und unkastrierten Hanfordschweinen durchgeführt. Mögliche Unterschiede geschlechtsspezifischer bzw. hormoneller Art konnten somit unberücksichtigt bleiben.

Das Durchschnittsgewicht der Tiere betrug zu Versuchsbeginn 15,0 kg (7,5-27,5 kg), d.h., es handelte sich hier um sehr junge Tiere.

Die Haltung der Tiere erfolgte in typischen Ställen aus wärmeisolierendem Material, ohne Auslauf.

Nach Implantation eines Venenkatheters mußten die Tiere jedoch einzeln in sogenannten Stoffwechselkäfigen gehalten werden, um sich nicht gegenseitig die Katheter wieder herauszuziehen.

Zweimal täglich wurde handelsübliches Schweinemastfutter (DLG Schweinemastfutter II, Firma Stettner, München) verfüttert. Wasser stand den Tieren aus Selbsttränken *ad libitum* zur Verfügung.

Vor Operationen bzw. Versuchen wurden die Tiere ca. 18 Stunden nüchtern gehalten.

3.2. Operationen

3.2.1. Instrumentarium

Das Operations-Instrumentarium entsprach dem auch in der Humanmedizin verwendeten. Ein spezieller Intubationsspatel für Miniaturschweine wurde von der Arbeitsgruppe bereits früher entwickelt (145).

Alle operativen Eingriffe wurden unter sterilen Kaute-len durchgeführt, ein Operationsprotokoll war obligat.

3.2.2. Narkose

Alle Narkosen wurden mit einer Kombination des Hypnotikums und Muskelrelaxans Metomidat (Hypnodil^R, Janssen GmbH, Düsseldorf) und des Sedativums aus der Butyrophe-nonreihe Azaperon (Stresnil^R, Janssen GmbH, Düsseldorf) durchgeführt (55, 160).

Zur Narkoseeinleitung wurden 2-4 mg/kg KG Azaperon intramuskulär und 10-15 mg/kg KG Metomidat intraperitoneal oder 3-5 mg/kg KG Metomidat intravenös injiziert.

Nach Hochziehen der Hinterläufe ging man mit einer langen Kanüle etwa 15 cm suprapubisch intraperitoneal ein. Die Einleitungsdosis genügte, um die Tiere jeweils exakt wiegen, am Operationstisch in Rückenlage fixieren und ihnen einen Venenkatheter legen zu können.

Die weitere Narkosedauer und -tiefe konnte durch Nachinjizieren von Metomidat (2 mg/kg KG) intravenös gut gesteuert werden.

Vor dem Hautschnitt gaben wir Atropin (Atropinsulfat Drobenä 0,5 mg, Drobenä GmbH, Berlin) intramuskulär in

einer Dosierung von 0,02-0,03 mg pro Kilogramm Körpergewicht, um der häufig zu beobachtenden Bronchialsekretion und vagal induzierten kardialen Rhythmusstörungen vorzubeugen. Diese Injektionen wurden gegebenenfalls in etwa zweistündlichen Abständen wiederholt.

Dieses Anästhesieverfahren erlaubt auch eine Intubation ohne zusätzliche Muskelrelaxierung. Die orale Intubation mit einem silikonisierten Nasotrachealtubus (Länge 30 cm, Durchmesser 28 bis 30 Charrière) und Beatmung mit einem handelsüblichen Beatmungsbeutel wurden erforderlich, wenn (gegen Ende der Operation am Versuchstag) der Thorax eröffnet werden mußte, um die Koronararterien präparieren und vitalfixieren zu können (145). Die Beatmungsfrequenz betrug ca. 20 Hübe pro Minute, wobei möglichst schonend beatmet werden sollte, da das Schwein schon bei relativ niedrigen Drücken zur Ausbildung von Emphyseblasen neigt (237).

Bereits bei früheren Versuchen hatte sich dieses - einer Neuroleptanalgesie entsprechende - Narkoseverfahren bewährt (159), so daß bei keiner Operation eine tödliche und auch sonst kaum eine Komplikation - von gelegentlichen Atemdepressionen abgesehen - auftrat.

3.2.3. Implantation von Venenkathetern

Meist vier Tage vor Versuchsbeginn implantierten wir den Tieren einen venösen Verweilkatheter zur möglichst streßfreien Blutentnahme vor und nach der eigentlichen Versuche. Donald et al. (57) konnten nachweisen, daß es bei Blutabnahmen aus Vena-jugularis-Kathetern zu keinem signifikanten Anstieg des Adrenokortikotropen Hormons

(ACTH) kommt, was gegen eine bedeutende psychische Belastung der Tiere spricht, und so eine biologisch rückwirkungsfreie - streßfreie - Meßwerterfassung, insbesondere adrenerg gesteuerter hämorheologischer Parameter, erlaubt (25).

Als Katheter verwendeten wir einfache Schläuche aus Silikon-Kautschuk mit einem Außendurchmesser von 3,5 mm und einem Innendurchmesser von 1,5 mm. Vor der Sterilisation wurden die Katheter vorne schräg abgeschnitten und mit Silikonspray besprüht.

Nach dem Hautschnitt längs und medial des Musculus sternocleidomastoideus zwischen Kieferwinkel und Brustbeinspitze präparierten wir meist die Vena jugularis externa, seltener die Vena jugularis interna frei und führten nach distaler Unterbindung des Gefäßes den Katheter (ca. 12-15 cm) in die Vena cava superior bis kurz vor den rechten Vorhof ein. Das distale Ende des Katheters verlegten wir subkutan zum Nacken und verschlossen es mit einem Plastikstöpsel.

3.2.4. Postoperative Versorgung

Die Operationswunden wurden mit einem Antibiotikum in Puderform (z.B. Refobacin^R-Puder, Fa. E. Merck, Darmstadt) und einem atmungsaktiven, antiseptischen Sprühverband (Nobecutan^R-Spray, ASTRA GmbH, Wedel) versorgt. Ein Mehr an Verbänden ist zum einen wenig sinnvoll, da die Tiere durch Scheuern an Wänden und Gittern das Verbandsmaterial schnell entfernen würden und zum anderen auch gar nicht nötig, da die Schweine außerordentlich widerstandsfähig sind und die Operationen fast ausnahmslos gut überstehen (159).

Nach den Venenkatheterimplantationen wurden die Tiere immer von den anderen isoliert gehalten, weil diese ihnen gerne den frisch gelegten Katheter wieder herausziehen und die Operationswunden aufbeißen. In diesen Stoffwechselkäfigen verblieben sie dann auch während der Versuche.

Unmittelbar nach der Implantation eines Venenverweilkatheters wurde dieser mit einer Mischung von ca. 1-2 ml - je nach Körpergewicht - Heparin (1 ml = 5000 U.S.P.-E. Thrombophob^R ad injectionem, Nordmark-Werke GmbH, Hamburg) und physiologische Kochsalzlösung ad 5 ml gefüllt.

Um eine gute Rückläufigkeit zu erhalten, wurde der Katheter jeden Tag mit physiologischer Kochsalzlösung gespült und - außer an den Versuchstagen - wieder wie oben beschrieben gefüllt.

3.2.5. Gefäßentnahme und Vitalfixierung

Unmittelbar nach dem Ende der jeweiligen Versuche (siehe 3.3.) erfolgte die Operation zur Entnahme der Gefäße. Zuerst wurde noch ein zweiter Katheter in die kontralaterale Vena jugularis gelegt und sodann jeweils ein Stück einer Arteria carotis und femoralis für die raster-elektronenmikroskopische Untersuchung entnommen.

Nachdem das entsprechende Arteriensegment in situ sauberlich und vorsichtig präpariert war, wurde es erst distal, dann proximal unterbunden und auf einem untergeschobenen Korkplättchen mit Hilfe von Stecknadeln in seiner ursprünglichen Länge fixiert. Nach Entnahme wurde das Gefäß an seiner Ventralseite längsgespalten und

mit möglichst vielen Nadeln etwa entsprechend seinem ursprünglichen Umfang plan auf das Korkplättchen aufgespannt. Dabei wurde es vorsichtig mit körperwarmer Pufferlösung gespült, um nicht adhärente Blutbestandteile zu entfernen.

Der Operateur benotete unmittelbar seine Gefäßpräparation und -entnahme jeweils nach festgelegten Kriterien mit Noten von 1-5 (Tab. 3)

Tab. 3: Beurteilungskriterien für die Gefäßentnahmen

Note 1: Entnahme leicht, rasch, technisch einwandfrei;

Note 2: Entnahme einwandfrei, aber etwas langwierigere Präparation (Nebenäste);

Note 3: Entnahme schwierig und langdauernd, aber keinerlei Verletzungen des Gefäßes;

Note 4: Entnahme sehr schwierig; Abriß von Nebenästen mit Blutungen;

Note 5: Erhebliche Traumatisierung des Hauptgefäßes mit stärkeren Blutungen.

Gefäße mit der Note 5 (kamen bei unseren Versuchen nicht vor) wurden immer verworfen. Uneingeschränkt in die Versuchsauswertung gingen nur Gefäße mit der Note 1 und 2 ein. Gefäße mit der Note 4 wurden nur verwertet, wenn sie bei der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung ein völlig intaktes Endothel ohne jegliche Adhärenz von Blutelementen unabhängig vom durchgeführten Versuch aufwiesen; Gefäße mit der Note 3 nur, wenn sie einen völlig gleichartigen Befund wie Gefäße mit der Note 1 und 2 aus dem gleichen Versuchsansatz zeigten.

Nach der Entnahme von nativen Gefäßsegmenten für die Rasterelektronenmikroskopie wurden die Versuchstiere intravital mit Glutaraldehyd fixiert, um entsprechend präparierte Arterienstücke für die Transmissionselektronenmikroskopie (und auch nochmals für die Rasterelektronenmikroskopie) zu gewinnen.

In den Carotis- und Femoralisstumpf wurde jeweils ein weiterer Katheter eingebracht, der mit einem Fixations-Perfusionssystem zur retrograden Arterienperfusion verbunden wurde.

Nach Vertiefen der Narkose erfolgten Intubation und Thorakotomie, und sodann wurde mit der manuellen Beatmung begonnen. Der Herzbeutel wurde eröffnet, die großen Gefäße oberhalb des Zwerchfells abgeklemmt und die beiden Fixations-Perfusionssysteme an der Arteria carotis und femoralis, sowie die beiden Venenkatheter - zum Druckausgleich - freigegeben. Sobald der Herzstillstand eingetreten war, wurde der Ramus interventricularis der A. coronaria sinistra mit einer Braunüle punktiert und an ein drittes Fixations-Perfusionssystem angeschlossen, welches sofort geöffnet wurde.

Um eine vorzeitige intravasale Blutgerinnung zu verhindern, wurden in jedem der drei Systeme und auch intravenös kleine Heparinmengen vorgegeben. Zur Vitalfixierung verwendeten wir folgende Lösung, die jeweils am Versuchstag neu angesetzt und vor der Fixation auf 5°C abgekühlt wurde:

- Glutaraldehyd 2,5%
- Na-Cacodylatpuffer 0,1 M, pH 7,4
- Calcium-Chlorid 0,05%

Die Perfusion erfolgte über 30 Minuten mit einem mittleren arteriellen Druck von ca. 100-150 cm H₂O entspre-

chend 136-204 mmHg. Dazu wurden im Durchschnitt sechs Liter Fixationslösung benötigt.

Nach Beendigung der Perfusion wurden die verbliebenen Arteriae carotis et femoralis, der Ramus interventricularis der linken Herzkranzarterie sowie ein Stück der Aorta abdominalis (unterhalb der Nierenarterienabgänge) für die Raster- und Transmissionselektronenmikroskopie entnommen und entsprechend weiterverarbeitet (siehe 3.5.1. und 3.5.2.).

3.3. Versuchsaufbau

Da sich die Versuchstiere bereits seit der Venenkatheterimplantation, die meist drei bis vier Tage vor den Versuchen erfolgte, in den oben beschriebenen Stoffwechselkäfigen (s. 3.2.4.) aufhielten, stand ihnen ausreichend Zeit zur Verfügung, um sich an ihre "neue Umgebung" zu gewöhnen.

Während der Versuche wurden sie in ihrer Bewegungsfreiheit in den Käfigen durch eingeschobene Bretter etwas eingeschränkt, was sie aber im allgemeinen gut tolerierten. Diese Maßnahme war notwendig, um zu verhindern, daß die Tiere nach hinten ausweichen und sich dabei eventuell die Maske abstreifen konnten. Der Boden der Käfige wurde mit Zellstoff ausgelegt, auf dem die Tiere während der Versuche in der Regel ruhig liegen blieben.

Jeweils vor und unmittelbar nach den Versuchen wurde den Tieren Blut für die Labordiagnostik (s. 3.4.) abgenommen, wobei die ersten 10 ml Blut immer verworfen wurden. Im Gegensatz zu den Tagen davor wurde der Venenkatheter

jetzt nur mit physiologischer Kochsalzlösung gefüllt, um etwaige heparininduzierte Fälschungen der Laborwerte (z.B. Thrombozytenfunktion) zu vermeiden.

Für die Versuche wurde den Tieren eine speziell entwickelte Maske angelegt, die über ein kombiniertes Hals-Brust-Geschirr aus Leder am Körper fixiert wurde. Über ein T-Stück war die Maske entweder mit der Rauchmaschine oder - bei den Kontrollversuchen - mit einer Gasflasche mit synthetische Luft (Fa. Linde AG, München) verbunden. Der Gasstrom pro Zeit wurde mittels eines Druckflußreglers (Dräger-Werke, Lübeck) auf 6 l/Minute eingestellt.

Zur Erzeugung von standardisiertem Zigarettenrauch (35 ml/s) wurde eine vollautomatische Rauchmaschine des INBIFO (Institut für biologische Forschung, Köln) verwendet. Abgeraucht wurde die Einheitszigarette E76 (14,3 mg Kondensat, 0,9 mg Nikotin). Die Zigarettenrauchzumischung wurde so eingestellt, daß die Kohlenmonoxidkonzentrationen im zur Maske führenden Inspirationsschlauch zwischen 180 und 200 ppm betrug (s. 2.6.).

3.4. Bestimmungsmethoden

3.4.1. Hämorheologische Parameter

3.4.1.1. Hämatokrit

Die Bestimmung des Hämatokrits erfolgte nach der Mikrohämatokritmethode nach Zentrifugieren in einer Hämatokritzentrifuge bei 5000 UpM für zehn Minuten nach Heidin.

3.4.1.2. Fibrinogen

Die Fibrinogenkonzentration wurde mit der Häkchenmethode nach Clauss bestimmt (41).

3.4.1.3. Viskosität

Die Blut- und Plasnaviskosität wurde aus EDTA-Blut mit dem Wells-Brookfield-Mikroviskosimeter (Konus-Platte-Viskosimeter) in einer Modifikation nach Schmid-Schönbein (236) mit Mooney-Kammer (Doppelkegel-Platte-System) bestimmt. Die Vollblutviskositätsbestimmung wurde jeweils bei 6 und 60 Umdrehungen pro Minute durchgeführt, wobei 6 Umdrehungen einem Schergrad von $7,8 \text{ s}^{-1}$ und 60 Umdrehungen einem Schergrad von 78 s^{-1} entsprechen. Dies sind Werte, wie sie im präkapillären Arterienbereich bzw. End-Arteriolen-Gebiet vorkommen (24, 261, 262). Die verwendeten Drehzahlen liegen weit unterhalb der Winkelgeschwindigkeit, die nötig ist, um Turbulenzen in der Probe zu erzeugen (261).

Das Prinzip des benutzten Viskosimeters ist folgendes (261): Ein Konus rotiert mit unterschiedlichen Umdrehungsgeschwindigkeiten auf einer planen Oberfläche, der Platte. Eine Einrichtung, die das Drehmoment mißt, verbindet den Antriebsteil mit einer vertikalen Welle, an der der Konus aufgehängt ist. Eine kleine Flüssigkeitsmenge zwischen Konus und Platte setzt der Rotation des Konus Widerstand entgegen und erzeugt ein Drehmoment in einer Größe, die eine Funktion der Schergeschwindigkeit in der Flüssigkeit ist.

Kennt man die geometrischen Werte des Konus und registriert Umdrehungsgeschwindigkeit und Drehmoment, kann

man die Scherkraft und Schergeschwindigkeit in der Flüssigkeit getrennt bestimmen, wobei die jeweiligen Werte für alle Flüssigkeitsteilchen gelten. Durch Änderung der Umdrehungsgeschwindigkeit und damit der Schergeschwindigkeit erhält man eine Serie von Werten für die Scherkraft.

3.4.1.4. Erythrozytenflexibilität

Die Prüfung der Erythrozytenflexibilität wurde nach einer Methode von Grigoleit (81) mit einem 5 μ m Microporefilter durchgeführt.

3.4.2 Thrombozytentests

3.4.2.1. Thrombozytenzahl

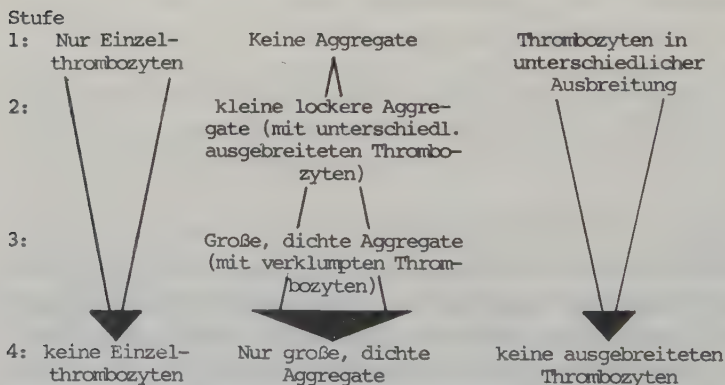
Die Thrombozytenzahl wurde in der Neubauer-Zählkammer nach Brecher und Cronkite ermittelt (26).

3.4.2.2. Thrombozytenaggregation

Zur Bestimmung der spontanen Thrombozytenaggregation wurde der (für das Hanford-Miniaturschwein modifizierte) Plättchenaggregationstest (PAT I) nach Breddin (27, 154) eingesetzt. Aus Citratblut (1 ml Na-Citrat 3,8% + 9 ml Blut) wurde nach 5-minütiger Zentrifugierung bei 1000 U/min plättchenreiches Citratplasma gewonnen. Ein Teil dieses Plasmas wurde in einem silikonisierten Meßkolben für 10 min mit 20 U/min im Wasserbad von 37 Grad Celsius rotiert. Dadurch wurde eine vorhandene Aggregationsaktivität verstärkt und sichtbar gemacht. Je ein silikonisierter Objektträger wurde für 30 min mit dem rotierten Plasma und je einer mit einer nicht rotierten

Vergleichsprobe überschichtet, Erythro- und Leukozyten mit Natrium-Citrat abgespült, das Präparat 5 min mit 40-%igem Formalin fixiert und vorsichtig mit Aqua dest. abgespült. Zur Oxidation und Farbaufnahme wurden die Präparate 5 min in 0,1 n Kaliumpermanganatlösung zur besseren Farbaufnahme und 1 Stunde in Giemsa-Lösung (20 ml Giemsa-Stammlösung + 80 ml Aqua dest.) gelegt und anschließend unter fließendem Leitungswasser abgespült. Nach der Lufttrocknung konnten die Präparate unter dem Lichtmikroskop ausgewertet werden. (s. Tab. 4)

Tab. 4: Stufeneinteilung und Beurteilungskriterien für den PAT I nach Breddin, in Abwandlung für die Bedingungen beim Hanford-Schwein (nach 154)



Zur genaueren Beurteilung und feineren Abstufung bei der statistischen Auswertung wurde noch ein Faktor bestimmt, der mit folgender Formel ausgerechnet wurde:

$$F = \frac{(\text{PAT-Stufe}) \times (\text{Zahl der Aggregate pro Blickfeld})}{(\text{Zahl der Einzelthrombozyten pro Blickfeld})}$$

3.4.2.3. Thrombozytenadhäsion

Zur Bestimmung der Thrombozytenadhäsion verwendeten wir den Fasertest nach Jacobi (107, 108) "Meßprinzip: In der ersten Phase der Thrombusbildung haften Thrombozyten z.B. an einer Läsionsstelle. Um diese Thrombozytenadhäsion meßtechnisch zu erfassen, ist es notwendig, beide Reaktionspartner - Thrombozyten und Fremdoberfläche - in-vivo-Verhältnissen anzupassen. Den in-vivo-Bedingungen am nächsten kommt ein System, in dem strömendem Vollblut eine definierte Fremdoberfläche angeboten wird und Temperatur und Strömungsgeschwindigkeit einstellbar sind und konstant gehalten werden können. In Analogie zu subendothelialen Fasern, die bei Läsionen freiliegen, werden im Test Kunststoff-Fasern verwendet. In Analogie zum Gefäß wird eine Glaskapillare benutzt, in der sich die Fasern befinden, und durch welches das mit Citrat versetzte Vollblut (2 ml Na-Citrat + 8 ml Vollblut) "strömt" (107).

Entsprechend Abb. 3 (s.u.) wird die 10 ml-Spritze in den Perfusor eingespannt, und exakt 30 s wird die Kapillare mit einer konstanten Geschwindigkeit von 162 ml/h ($\hat{=}$ 2,7 ml/min) durchströmt. Dann wird die Kapillare weg- und das PVC-Schlauchstück abgenommen und der Faden für 1 min in eine Petrischale (ϕ ca. 10 cm) mit Hämolyselösung gelegt. Auf diese Weise werden noch 2 weitere Proben genommen.

Jede Probe wird mit 0,1 ml Natronlauge 2,5% versetzt und 3 min bei 60°C im Wasserbad inkubiert. Gleichzeitig läuft ein Leerwert mit, welcher bis auf den Faden alle Reagenzien enthält. Nach der Inkubation bleiben die Proben bei Raumtemperatur 5 min stehen, anschließend werden in gleichbleibender Reihenfolge folgende Lösun-

gen dazupipettiert: 0,1 ml bidest. Wasser, 0,1 ml Natriumcarbonatlösung 20% und 0,05 ml Folin-Reagenz (nach Lowry et al.) (137). Nach kurzem Schütteln und weiteren 10 min Stehenlassen bei Raumtemperatur werden die Proben bei 578 nm im Eppendorf-Photometer mit Halbmikroküvetten aus Glas gemessen.

Berechnung nach Jacobi et al.:

$$\frac{\text{Extinktion}}{0,00807} = \mu\text{g Plättchenprotein}$$

Bei dieser Strömungszeit und -geschwindigkeit ist die Menge des Thrombozytenproteins ein Maß für die Thrombozytenadhäsivität.

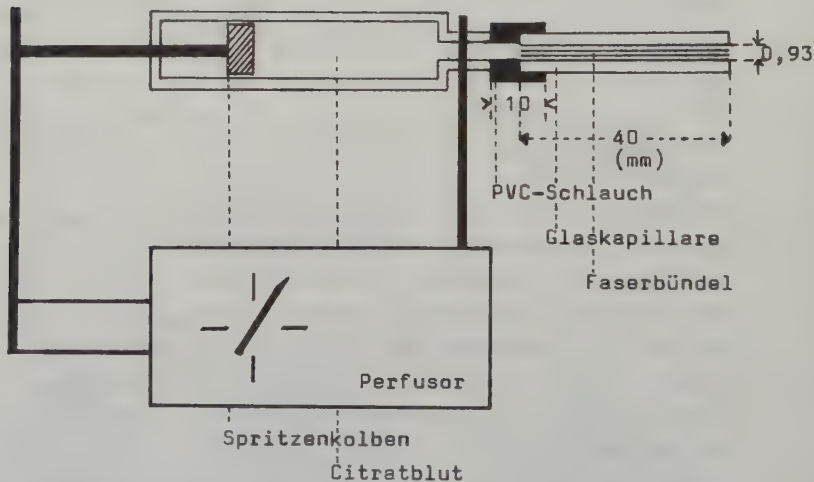


Abb. 3: Schematische Darstellung des Meßaufbaus für den Fasertest (nach Jacobi). Der in der Kapillare befindliche Faden ist am vorderen Ende durch einen PVC-Schlauch befestigt. Dieser Schlauch ist gleichzeitig Verbindungsstück zur 10-ml-Spritze.

3.4.3. Kohlenmonoxid

Die Routinemessungen erfolgten mit dem Dräger Gasspürgerät (Multigasdetektor Modell 21/31, Dräger-Werke Lübeck). Hierbei wurde die zu untersuchende Luft mit der Gasspürpumpe durch das Dräger-Röhrchen CO 5/c gesaugt und der resultierende Wert an der Farbveränderung der Prüfröhrchenskala abgelesen. Die Kohlenmonoxidanzeige beruht auf einer Farbreaktion mit Jodpentoxid, Selen-dioxid und rauchender Schwefelsäure. Die Messung der Kohlenmonoxidkonzentration in der Umgebungsluft bzw. im zuführenden Maskenschlauch konnte nach dieser Methode direkt erfolgen.

Für die Bestimmung des COHb war ein Zwischenschritt erforderlich (208): Aus einer bekannten Menge kohlenmonoxidhaltigen, durch Zusatz von pulverisiertem Natriumfluorid ungerinnbar gemachten Blutes wird das Kohlenmonoxid mit Kaliumhexazyanoferat III ($K_3(Fe(CN)_6)$) freigesetzt. Das freigesetzte Kohlenmonoxid wird mit einem Liter kohlenmonoxidfreier Luft gemischt. Der Kohlenmonoxidgehalt dieses Gemisches wird wie üblich mit dem Dräger-Röhrchen CO 5/c gemessen und auf den Hämoglobingehalt des untersuchten Blutes bezogen.

Bei der Berechnung der Sättigungsprozente wurde bei den Routinemessungen vereinfachend davon ausgegangen, daß der Hämoglobingehalt des Blutes eines gesunden Schweines ungefähr 15 g/100 ml (= 9,3 mmol/l) beträgt (246), und daß ein Gramm Hämoglobin maximal 1,34 ml Kohlenmonoxid zu binden vermag. Daraus errechnet sich die Sätti-

gungskonzentration in % COHb wie folgt:

$$\frac{\% \text{ COHb}}{\text{ml CO}} = \frac{100\%}{15 \text{ g Hb}/100 \text{ ml} \times 1,34 \text{ ml CO/ml} \times \text{ml (Probe)}}$$

$$\% \text{ COHb} = \frac{\text{ml CO} \times 497}{\text{ml (Probe)}} = \frac{\text{ppm CO} \times 497}{\text{ml (Probe)}}$$

ml (Probe): Menge des untersuchten Blutes in ml

ppm CO : Konzentration des freigesetzten Kohlenmonoxids in ppm (nach Verdünnung mit einem Liter Luft)

Diese einfache volumetrische Gasverdünnungsmethode ergab in vergleichenden Untersuchungen mit der Spektrophotometrie und vor allem der Infrarotbestimmung gute Übereinstimmung im Bereich von 5 bis 20% COHb (158).

Wir bestimmten die inspiratorischen Kohlenmonoxidkonzentrationen und das COHb jeweils zweimal pro Versuch; jede Bestimmung erfolgte als Doppelbestimmung.

3.5. Mikroskopie

3.5.1. Rasterelektronenmikroskopie

Um im Rasterelektronenmikroskop aussagekräftige Bilder zu bekommen, mußten die entnommenen Arteriensegmente unmittelbar fixiert und entsprechend aufbereitet werden.

Fixation und Entwässerung der Gefäßpräparate für die Rasterelektronenmikroskopie:

30 min	in einer auf 4 Grad Celsius gekühlten und auf ein pH von 7,2 gepufferten Glutaraldehydlösung
2 x 30 min	in 30-prozentigem Alkohol
12 - 17 h	in 70-prozentigem Alkohol
30 min	in 90-prozentigem Alkohol
30 min	in absolutem Alkohol

Die Präparate wurden weiterhin in schwachem Vakuum vorgetrocknet, um einen schonenden Übergang zum Hochvakuum zu gewährleisten. Darauf wurden sie auf Spezialobjektträger gelegt, mit Gold oder Kohle-Gold bedampft und in das Rasterelektronenmikroskop (Cambridge Stereoscan Mark II) eingebracht.

Die Präparate wurden einheitlich nach einem Zick-Zack-Raster untersucht. Dabei wurden an jeder Ecke der Zick-Zack-Linie eine Übersichtsaufnahme und zwei Aufnahmen in Vergrößerungen, die zur Thrombozytenidentifikation geeignet sind, aufgenommen. Damit sollte ein gezieltes Absuchen der Präparate nach Thrombozytenadhäsionen oder sonstigen erwarteten Befunden verhindert werden.

Um wirklich größtmögliche Objektivität zu garantieren, wurden die rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen streng blind durchgeführt. Jedes Präparat erhielt eine fortlaufende Nummer, die Versuchsreihenfolge wurde ausgewürfelt. Der Schlüssel zur Identifikation der Präparatenummern wurde beim Versuchsleiter unter Verschuß genommen und erst herausgegeben, als alle Aufnahmen

nach dem unten beschriebenen Schema (siehe Tabelle 5) befundet waren. Sowohl beim Fotografieren der Präparate, als auch bei der Bewertung der Aufnahmen war den Untersuchenden die Herkunft, d.h. die Art des Versuches, nicht bekannt. Die Aufnahmen wurden von zwei Untersuchern getrennt schriftlich befundet.

Auf den rasterelektronenmikroskopischen Bildern des Endothels der Miniaturschweine lassen sich zahlreiche längsgerichtete, oval-rundliche, manchmal bauchige Erhabenheiten in einer Größe von $14 \times 10 \mu\text{m}^2$ erkennen, die den Endothelzellkernen entsprechen. Die Form dieser Zellkerne ist starken Schwankungen unterworfen. Kugelig in das Lumen ragende Zellen in einer Größe von 4 bis $5 \mu\text{m}$ Durchmesser konnten als abschilfernde Endothelzellen (beginnende Schrumpfnekrosen ?) identifiziert werden; oft dürfte es sich dabei aber auch um adhärente Monozyten bzw. monozytäre Elemente handeln.

Die Thrombozyten stellten sich als 1 bis $3 \mu\text{m}$ große Zellen, teils als Einzelgebilde, teils in Zusammenballung dar. Sie unterscheiden sich deutlich in der Ruheform (mittlerer Längsdurchmesser $2,4 \mu\text{m}$, mittlerer Querdurchmesser $1,7 \mu\text{m}$, diskoid, glatte Zellen) von ihrer viskösen Metamorphose (Reizform: mittlerer Längsdurchmesser $2,1 \mu\text{m}$, mittlerer Querdurchmesser $1,3$ bis $1,7 \mu\text{m}$, bis zu $3 \mu\text{m}$ lange Pseudopodien). Die Pseudopodien bilden manchmal von Fibrinfäden schwer abzugrenzende dichte Netze.

Erythrozyten sind glatt und bikonkav mit einem Durchmesser von $5,3 \pm 0,5 \mu\text{m}$.

Die Leukozyten besitzen eine zottige, kugelige Oberfläche bei einem Durchmesser von $5,2 \pm 1,2 \mu\text{m}$ (149).

Für die Bewertung der rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen verwendeten wir ein siebenstufiges Beurteilungsschema (s. Tab. 5).

3.5.2. Transmissionselektronenmikroskopie

Nach der In-vivo-Vorfixierung (s. 3.2.5.) wurden die Präparate zum Transport in Pufferlösung (Na-Cacodylat-Puffer 0,1 M, pH 7,4; Ca Cl_2 0,05%) gegeben und in einer Kühlbox - bei einer Temperatur von ca. 4°C - per Express an Herrn Prof. Dr. J. Staubesand (Anatomisches Institut der Universität, Freiburg i. Br.) zur weiteren Aufbereitung gesandt.

Dort erfolgte eine Nachfixierung in Osmiumtetroxid (OsO_4), in Cacodylatpuffer bei pH 7,4, Blockkontrastierung mit Uranylazetat und Phosphorwolframsäure, Einbettung in Epon 812, Ultradünnschnitte mit dem LKB-Ultratom 4800 und Aufnahmen mit dem Elektronenmikroskop EM 9-S bzw. dem EM 10-S (beide Zeiss) bei 5000-10000-facher Primärvergrößerung.

sicher intaktes, normales Endothel	1	sicher keine Fibrinauflagerungen
keine eindeutigen Endothelveränderungen (wahrscheinlich intakt)	2	keine eindeutigen Fibrinauflagerungen
gering verändertes Endothel mit deutlich vorgewölbten Endothelzellkernen; deutl. feingranuläre Aufwerfungen über den Endo- thelzellkernen (apikales Ödem)	3 - 4	geringe Fibrinauflagerungen 3 = einzelne Fibrinfäden (typ.) (lokal) 4 = einzelne Fibrinfäden über den ganzen Bildausschnitt verteilt
3 = einzeln; 4 = über den ganzen Bild- ausschnitt verteilt	5 - 6	5 = stärkere Fibrinauflagerungen an wenigen Stellen 6 = stärkere, über den ganzen Bildaus- schnitt verteilte Fibrinauflagerungen
Spaltbildungen zwischen den Endothelzel- len; aufgeworfene Endothelzellränder (Segel), einzelne Endothelzellablösungen bis Schrumpfnekrosen 5 = gelegentlich, 6 = überall	7	massive, dicke Fibrinauflagerungen im gesamten Bildausschnitt (Fibrinthrom- bus)
stark verändertes Endothel mit umfang- reichen Endothelzellablösungen und Schrumpfnekrosen		

THROMBOZYTEN

STUFE MONOZYTÄRE ELEMENTE

sicher keine Thrombozyten	1	sicher keine monozytären Elemente	1
möglicherweise einzelne Thrombozyten (oder Auflagerung von einzelnen Thrombozytenruheformen)	2	möglicherweise einzelne monozytäre Elemente	91
typische Adhärenz von einzelnen Thrombo- zyten (Reizform) (≤ 3)	3	sichere Adhärenz typischer einzelner monozytärer Elemente (< 3)	1
mehrere adhärenzte Einzelthrombozyten (> 3)	4	mehrere einzelne monozytäre Elemente ($3 < 5$)	1
mäßig viele (> 10) Thrombozytenadhäsionen über den gesamten Bildausschnitt verteilt oder lokale Anhäufung	5	5, 6 oder 7 monozytäre Elemente	
reichlich Thrombozytenadhäsionen über den gesamten Bildausschnitt verteilt	6	8, 9 oder 10 monozytäre Elemente	
massenhaft Thrombozytenadhäsionen (Thrombozytenthrombus)	7	sehr viele monozytäre Elemente (> 10)	

Tabelle 5b: Beurteilungsschema für die Auswertung der rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen

4. ERGEBNISSE

Die Ergebnisse der humoralen Parameter nach den Versuchen gegenüber den Ausgangswerten ergaben eine signifikante Erhöhung der Thrombozytenzahl und der Plättchenadhäsivität (Fasertest) bei den Zigarettenrauchversuchen. Die statistische Prüfung der Signifikanz erfolgte mit dem t-Test nach Student für paarig verbundene Stichproben (Signifikanzniveau $p < 0,05$).

Die Ergebnisse im einzelnen sollen der besseren Übersicht wegen in tabellarischer Form - wie folgt - wiedergegeben werden:

a) Die erste Tabelle zeigt jeweils die Ergebnisse vor und nach einmaliger vierstündiger Exposition gegenüber Raumluft der Versuchstiere mit den laufenden Nummern 174, 178, 180, 184, 192 und 194.

b) Die zweite Tabelle zeigt jeweils die Ergebnisse vor und nach einmaliger vierstündiger Exposition gegenüber Zigarettenrauch. Ausgewertet wurden die Tiere mit den Nummern 170 (Vorversuch), 171, 175, 179, 182, 189 und 187 ("Subakutversuch" über vier Tage, Ergebnisse vor und nach dem ersten Versuchstag).

4.1. Hämorheologische Parameter

Erläuterungen zu Tabelle 6-12:

vv = Vorversuch

4d = Viertagesversuch

n.s. = nicht signifikant

4.1.1. Hämatokrit

Tabelle 6: Hämatokrit (Einheit: Volumenprozent)

RAUMLUFTEXPOSITION		
TIER-NR.	VORHER	NACHHER
174	37	37
178	38	40
180	30	30
184	35	34
192	27	27
194	36	38
$\bar{x} \pm s$	$33,8 \pm 4,3$	$34,4 \pm 5,1$

nicht signifikant

ZIGARETTENRAUCHEXPOSITION		
TIER-NR.	VORHER	NACHHER
vv 170	35	36,9
171	35,5	31,5
175	36	36
179	36	36,6
182	37	39
189	36	31
4d 187	37	38
$\bar{x} \pm s$	$36,1 \pm 0,7$	$35,6 \pm 3,1$

nicht signifikant

4.1.2. Fibrinogen

Tabelle 7: Fibrinogen (Einheit mg/100 ml ($=10^{-2}$ g/l))

RAUMLUFTEXPOSITION		
TIER-NR.	VORHER	NACHHER
174	>640	>640
178	439	443
180	545	>630
184	>640	>640
192	402	369
194	368	447
$\bar{x} \pm s$	438,5 $\pm$ 76,7	419,7 $\pm$ 43,9

nicht signifikant

ZIGARETTENRAUCHEXPOSITION		
TIER-NR.	VORHER	NACHHER
vv 170	305	640
171	490	580
175	414	461
179	>650	>600
182	635	>640
189	>640	580
4d 187	>640	--
$\bar{x} \pm s$	461,0 $\pm$ 138,6	565,3 $\pm$ 75,0

nicht signifikant

Da die Fibrinogenkonzentrationen beim Miniaturschwein oft relativ hoch sind, reicht die für die Humanmedizin bestimmte Methode der Fibrinogenmessung nach Clauss oft nicht aus. Die Ergebnisse mit dem Hinweis "größer als" gingen daher nicht in die Berechnung von Mittelwert und Standardabweichung ein.

4.1.3. Viskosität

Tabelle 8: Blut- und Plasmaviskosität (bei 60 bzw. 6 Umdrehungen pro Minute)

(Einheit: cP (centi-Poise) = mPa x s)

a)

TIER-NR.	RAUMLUFTEXPOSITION			
	VORHER		NACHHER	
Umdrehungen	60	6	60	6
Blutviskosität				
174	4,38	10,1	4,03	8,42
178	3,76	6,3	3,79	7,6
180	--	--	--	--
184	5,60	14,7	4,73	15,6
192	3,68	8,42	3,85	12,63
194	4,90	8,42	4,20	7,16
$\bar{x} \pm s$	$4,5 \pm 0,8$	$9,6 \pm 3,2$	$4,1 \pm 0,4$	$10,3 \pm 3,7$

Plasmaviskosität

174	3,33	--	2,45	4,21
178	1,65	2,5	1,58	2,1
180	--	--	--	--
184	1,93	4,21	4,73	4,21
192	2,28	6,32	2,80	10,53
194	3,33	6,32	3,15	14,73
$\bar{x} \pm s$	$2,5 \pm 0,8$	$4,8 \pm 1,9$	$2,9 \pm 1,2$	$7,2 \pm 5,3$

keine Signifikanz auf dem 5% Niveau

b)

ZIGARETTENRAUCHEXPOSITION				
TIER-NR.	VORHER		NACHHER	
Umdrehungen	60	6	60	6
Blutviskosität				
vv 170	4,55	12,63	4,20	10,50
171	4,20	7,20	3,50	8,42
175	3,85	7,99	3,85	7,58
179	4,55	9,30	4,55	8,40
182	4,20	11,78	5,25	13,47
189	5,25	19,79	3,85	6,32
4d 187	5,60	16,84	5,95	12,63
$\bar{x} \pm s$	$4,6 \pm 0,6$	$12,2 \pm 4,7$	$4,5 \pm 0,9$	$9,6 \pm 2,7$

Plasmaviskosität				
vv 170	1,58	2,10	2,63	6,30
171	1,58	1,70	1,75	2,10
175	1,40	2,11	1,58	2,10
179	2,45	5,10	2,10	4,21
182	2,80	4,21	3,85	6,30
189	1,58	4,21	--	--
4d 187	3,50	12,63	3,15	10,52
$\bar{x} \pm s$	$2,1 \pm 0,8$	$4,6 \pm 3,8$	$2,5 \pm 0,9$	$5,3 \pm 3,2$

keine Signifikanz auf dem 5% Niveau

4.1.4. Erythrozytenflexibilität bzw. -filterabilität

Tabelle 9: Erythrozytenflexibilität bzw. -filterabilität
(Einheit: "ml auf 1 Minute")

RAUMLUFTEXPOSITION		
TIER-NR.	VORHER	NACHHER
174	0,70	0,75
178	1,00	1,11
180	0,82	0,65
184	0,50	0,70
192	1,13	1,50
194	1,22	1,46
$\bar{x} \pm s$	$0,90 \pm 0,27$	$1,03 \pm 0,39$

ZIGARETTENRAUCHEXPOSITION		
TIER-NR.	VORHER	NACHHER
vv 170	1,05	0,85
171	1,20	1,70
175	0,85	1,20
179	0,74	0,87
182	0,55	0,84
189	0,25	--
4d 187	0,85	--
$\bar{x} \pm s$	$0,88 \pm 0,26$	$1,09 \pm 0,37$

Die Erythrozytenflexibilität bzw. -filterabilität vor und nach Raumluf-, bzw. Zigarettenrauchexposition ergibt bei der statistischen Überprüfung mit dem t-Test nur eine Signifikanz auf dem 10%-Niveau.

Die jeweiligen Erhöhungen der Erythrozytenflexibilität bei Raumlufexposition gegenüber Zigarettenrauchexposition zeigen keinen signifikanten Unterschied.

4.2. Thrombozytentests

4.2.1. Thrombozytenzahl

Tabelle 10: Thrombozytenzahl

(Einheit: Zahl/mm³ x 0,001 = g/l)

RAUMLUFTEXPOSITION		
TIER-NR.	VORHER	NACHHER
174	314	303
178	486	446
180	745	670
184	332	367
192	501	510
194	286	278
$\bar{x} \pm s$	444 $\pm$ 173	429 $\pm$ 146,6

p > 0,05 (nicht signifikant)

ZIGARETTENRAUCHEXPOSITION		
TIER-NR.	VORHER	NACHHER
vv 170	490	508
171	555	605
175	326	420
179	496	621
182	347	381
189	449	405
4d 187	314	329
$\bar{x} \pm s$	425,3 $\pm$ 95,7	467,0 $\pm$ 113,2

p < 0,05 (signifikant)

4.2.2. Thrombozytenaggregation

Tabelle 11: Thrombozytenaggregation: PAT I nach Breddin
(Einheiten: Stufen, Faktoren; s. 2.4.2.2.)

Stufen:

RAUMLUFTEXPOSITION		
TIER-NR.	VORHER	NACHHER
174	1,50	1,00
178	1,50	2,25
180	1,50	3,50
184	2,50	2,50
192	3,50	3,00
194	2,50	1,50
$\bar{x} \pm s$	$2,2 \pm 0,8$	$2,3 \pm 0,9$

$p > 0,1$ (nicht signifikant)

ZIGARETTENRAUCHEXPOSITION		
TIER-NR.	VORHER	NACHHER
vv 170	2,50	2,50
171	2,50	2,50
175	2,50	1,00
179	2,50	2,00
182	1,50	2,50
189	2,50	2,50
4d 187	2,00	1,50
$\bar{x} \pm s$	$2,3 \pm 0,4$	$2,1 \pm 0,6$

$p > 0,01$ (nicht signifikant)

Faktoren:

RAUMLUFTEXPOSITION		
TIER-NR.	VOR	NACH
174	2,00	0,30
178	0,54	0,93
180	0,29	10,80
184	5,80	5,60
192	15,00	7,44
194	5,12	1,98
$\bar{x} \pm s$	$4,8 \pm 5,5$	$4,5 \pm 4,2$

$p > 0,1$ (nicht signifikant)

ZIGARETTENRAUCHEXPOSITION		
TIER-NR.	VOR	NACH
vv 170	5,20	7,60
171	4,40	5,90
175	2,48	0,31
179	3,05	1,60
182	1,37	7,35
189	4,54	3,90
4d 187	1,01	0,54
$\bar{x} \pm s$	$3,2 \pm 1,6$	$3,9 \pm 3,1$

$p > 0,1$ (nicht signifikant)

4.2.3. Thrombozytenadhäsion

Tabelle 12: Fasertest (Einheit: μg Plättchenprotein)

RAUMLUFTEXPOSITION		
TIER-NR.	VORHER	NACHHER
174	22,05	22,67
178	21,06	21,35
180	23,23	22,05
184	23,33	21,85
192	-	-
194	22,18	21,56
$\bar{x} \pm s$	$22,4 \pm 0,9$	$21,9 \pm 0,5$
$p > 0,1$ (nicht signifikant)		

ZIGARETTENRAUCHEXPOSITION		
TIER-NR.	VORHER	NACHHER
vv 170	-	-
171	25,65	28,25
175	22,92	30,48
179	16,81	23,62
182	15,11	20,85
189	-	-
4d 187	21,52	24,25
$\bar{x} \pm s$	$20,40 \pm 4,36$	$25,49 \pm 3,84$
$p < 0,01$ (signifikant)		

4.3. Kohlenmonoxid

Die Messungen der inspiratorischen Kohlenmonoxidkonzentration und des COHb wurden bei den Zigarettenrauchversuchen erst im Verlauf der Studie regelmäßig durchgeführt; einmal wurde die CO-Konzentration im Expirationsstadium im Inspirationsschlauch gemessen. Üblicherweise wurden ca. 180 ppm CO im Inspirationsschlauch und COHb-Spiegel zwischen 5 und 6% erreicht; was im Wertebereich früherer Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe lag (157).

4.4. Mikroskopie

4.4.1. Rasterelektronenmikroskopie

Die nachfolgenden vier Tabellen geben die Benotungen der einzelnen Gefäßpräparate entsprechend den vier Kriterien Gefäßendothel, Fibrinauflagerung, Thrombozyten und monozytäre Elemente wieder (s. 3.5.1.).

Die Versuchstiernummern 174, 178, 180, 184, 192 und 194 entsprechen den raumluftexponierten Tieren; wobei das Tier 180 wahrscheinlich aus präparationstechnischen Gründen deutlich bezüglich der vier genannten Kriterien von den anderen Tieren abwich und deshalb nicht in die statistische Auswertung aufgenommen wurde.

Die Zwergschweine mit den Nummern 171, 175, 179, 182 und 189 wurden Zigarettenrauch exponiert. Das Tier Nummer 170 - Vorversuch - ging ebenfalls nicht in die statistische Auswertung ein, da hierbei Probleme bei der Gefäßpräparation bestanden.

Untersucht wurden jeweils 6 Gefäßpräparate pro Versuchstier, nämlich je eine Arteria carotis und femoralis, die dem lebenden narkotisierten, nicht vitalfixierten Tier entnommen wurden (im folgenden mit "n.v." bezeichnet), und nach Vitalfixierung jeweils die kontralaterale Arteria carotis und femoralis, der Ramus interventricularis der linken Herzkranzarterie und ein Stück Aorta abdominalis unterhalb des Abgangs der Nierenarterien. Von jedem Gefäßpräparat wurden nach oben beschriebenem Zickzackmuster (s. 3.5.1.) die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen gefertigt, von denen im Durchschnitt 10 Stück zur Auswertung kamen.

Die Prüfung der rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen auf statistische Signifikanz erfolgte mit dem Test von Wilcoxon, Mann und Whitney zum Vergleich der beiden Versuchsgruppen raumluftexponierte Tiere gegen zigarettenrauchexponierte Tiere.

Als Signifikanzgrenze galt - wenn nicht anders erwähnt - $p < 0,05$.

Erläuterungen zu Tabelle 13-16:

A. = Arterie

n.v. = nicht vitalfixiertes Gefäß; alle anderen Gefäße wurden mit Glutaraldehyd vitalfixiert

4 d = Viertagesversuch

Regr = Regressionsversuch

vv = Vorversuch

Tabelle 13: Rasterelektronenmikroskopische Beurteilung
Gefäßendothel (Einheit: Noten 1-7; siehe Tab. 5)
(Erläuterungen siehe S. 105)

NACH RAUMLUFTEXPOSITION	174	178	184	192	194	$\bar{x} \pm s$			
A. carotis n.v.	2,3	2,8	2,8	2,3	3,3	2,7 $\pm$ 0,42			
A. femoralis n.v.	3,0	2,9	1,6	2,1	2,9	2,7 $\pm$ 0,37			
A. carotis	1,6	1,8	1,9	1,9	1,7	1,8 $\pm$ 0,13			
A. femoralis	2,5	1,9	1,8	1,9	2,7	2,2 $\pm$ 0,41			
A. coronaria sin.	2,0	2,2	1,9	2,4	2,0	2,1 $\pm$ 0,20			
Aorta abdominalis	-	2,6	2,1	2,3	1,8	2,2 $\pm$ 0,34			
NACH ZIGARETTENRAUCHEXPOSITION	171	175	179	182	189	$\bar{x} \pm s$	187 4d	193 Regr	170 vv
A. carotis n.v.	4,6	4,5	4,3	4,5	4,4	4,5 $\pm$ 0,11	4,4	2,2	2,5
A. femoralis n.v.	4,8	4,6	5,2	4,2	4,4	4,6 $\pm$ 0,38	4,5	2,6	2,5
A. carotis	-	3,2	3,1	3,7	3,0	3,3 $\pm$ 0,31	4,2	1,6	1,8
A. femoralis	4,9	3,5	3,8	3,6	3,5	3,9 $\pm$ 0,59	3,9	2,0	2,4
A. coronaria sin.	4,1	3,8	3,8	3,2	3,3	3,6 $\pm$ 0,38	4,2	-	1,8
Aorta abdominalis	4,9	4,5	-	3,3	3,7	4,1 $\pm$ 0,73	3,9	2,0	2,8

Tabelle 14: Rasterelektronenmikroskopische Beurteilung
Fibrinauflagerung (Einheit: Noten 1-7; siehe Tab. 5)
 (Erläuterungen siehe S. 105)

NACH RAUMLUFTEXPOSITION	174	178	184	192	194	$\bar{x} \pm s$
A. carotis n.v.	3,0	2,2	2,8	2,2	2,9	$2,6 \pm 0,39$
A. femoralis n.v.	2,8	2,3	2,0	2,9	2,7	$2,5 \pm 0,38$
A. carotis	1,5	1,8	1,7	1,4	1,6	$1,6 \pm 0,16$
A. femoralis	2,9	1,7	1,4	1,7	2,3	$2,0 \pm 0,60$
A. coronaria sin.	1,8	1,6	2,1	2,6	2,4	$2,1 \pm 0,41$
Aorta abdominalis	-	2,2	2,6	2,4	2,4	$2,4 \pm 0,16$

NACH ZIGARETTENRAUCHEXPOSITION	171	175	179	182	189	$\bar{x} \pm s$	187 4d	193 Regr	170 vv
A. carotis n.v	3,4	4,3	2,9	3,5	3,1	$3,4 \pm 0,54$	3,7	2,4	2,0
A. femoralis n.v.	4,1	3,9	4,8	3,9	3,0	$3,9 \pm 0,64$	4,5	3,1	2,3
A. carotis	-	3,2	2,9	2,9	2,8	$3,0 \pm 0,17$	4,6	1,5	1,8
A. femoralis	3,5	4,2	3,6	2,6	3,1	$3,4 \pm 0,60$	3,7	2,4	1,8
A. coronaria sin.	3,8	3,5	3,8	2,8	2,5	$3,3 \pm 0,60$	3,6	-	2,8
Aorta abdominalis	4,0	4,0	-	2,8	3,7	$3,6 \pm 0,57$	3,9	1,6	2,9

Tabelle 15: Rasterelektronenmikroskopische Beurteilung
Thrombozyten (Einheit: Noten 1-7; siehe Tab. 5)
(Erläuterungen siehe S. 105)

NACH RAUMLUFTEXPOSITION	174	178	184	192	194	$\bar{x} \pm s$
A. carotis n.v.	1,5	1,4	1,5	1,9	1,9	$1,6 \pm 0,24$
A. femoralis n.v.	1,7	1,2	1,6	1,1	1,2	$1,4 \pm 0,27$
A. carotis	1,5	1,7	1,6	1,3	1,0	$1,4 \pm 0,28$
A. femoralis	1,5	1,3	1,6	1,8	1,4	$1,5 \pm 0,19$
A. coronaria sin.	1,3	1,2	1,6	1,0	1,8	$1,4 \pm 0,32$
Aorta abdominalis	-	1,5	1,7	1,4	1,3	$1,5 \pm 0,17$

NACH ZIGARETTENRAUCHEXPOSITION	171	175	179	182	189	$\bar{x} \pm s$	187 4d	193 Regr	170 vv
A. carotis n.v.	2,8	3,0	2,5	2,8	2,6	$2,7 \pm 0,19$	2,7	1,4	1,9
A. femoralis n.v.	2,3	3,1	2,7	2,5	2,6	$2,6 \pm 0,30$	2,6	1,4	2,1
A. carotis	-	2,6	1,9	1,6	2,1	$2,1 \pm 0,42$	2,5	1,8	2,3
A. femoralis	3,1	2,2	3,7	1,9	2,7	$2,7 \pm 0,72$	2,6	1,6	2,1
A. coronaria sin.	2,5	2,8	3,3	1,9	2,0	$2,5 \pm 0,58$	2,1	-	2,5
Aorta abdominalis	2,3	2,0	-	2,5	2,3	$2,3 \pm 0,21$	2,6	1,3	2,1

Tabelle 16: Rasterelektronenmikroskopische Beurteilung
Monozytäre Elemente (Einheit: Noten 1-7; siehe Tab. 5)
 (Erläuterungen siehe S. 105)

NACH RAUMLUFTEXPOSITION	174	178	184	192	194	$\bar{x} \pm s$
A. carotis n.v.	2,3	1,8	2,5	2,1	2,6	$2,3 \pm 0,32$
A. femoralis n.v.	3,3	1,5	1,4	3,0	2,4	$2,3 \pm 0,86$
A. carotis	2,9	1,8	3,1	2,8	1,6	$2,4 \pm 0,69$
A. femoralis	3,0	2,2	2,8	2,0	2,3	$2,5 \pm 0,42$
A. coronaria sin.	2,8	2,6	2,8	2,3	2,2	$2,5 \pm 0,28$
Aorta abdominalis	-	1,6	3,6	1,6	1,6	$2,1 \pm 1,00$

NACH ZIGARETTENRAUCHEXPOSITION	171	175	179	182	189	$\bar{x} \pm s$	187 4d	193 Regr	170 vv
A. carotis n.v.	3,0	4,0	2,0	2,0	2,8	$2,8 \pm 0,83$	3,1	1,9	1,6
A. femoralis n.v.	2,8	3,5	1,4	2,8	2,4	$2,6 \pm 0,77$	2,5	2,6	1,5
A. carotis	-	3,1	1,8	2,2	3,1	$2,6 \pm 0,66$	2,3	2,6	3,2
A. femoralis	4,0	2,8	1,5	2,8	2,1	$2,6 \pm 0,93$	3,2	2,7	2,9
A. coronaria sin.	3,6	3,2	2,9	2,4	3,0	$3,0 \pm 0,44$	2,7	-	2,5
Aorta abdominalis	2,8	2,8	-	3,1	2,9	$2,9 \pm 0,14$	2,7	1,0	2,0

Die Auswertung der rasterelektronenmikroskopischen Bilder erlaubt folgende Aussagen:

- Der Vergleich der einzelnen Gefäßpräparate der raumluftexponierten gegenüber den zigarettenrauchexponierten Tiere zeigte eine statistisch signifikante Veränderung im Sinne einer Verschlechterung (d.h. höheren Stufe nach Tabelle 5).
- Das Gefäßendothel wies bei den Kontrolltieren keine eindeutigen Veränderungen (von gelegentlichen Artefakten abgesehen) auf. Nach einmaliger, vierstündiger Zigarettenrauchexposition fanden sich bereits geringe Veränderungen.
- Auch geringe Fibrinauflagerungen waren bei den Rauchtieren zu sehen.
- Wie bereits die früheren Ergebnisse der Arbeitsgruppe zeigten, fanden sich auch bei diesen Rauchversuchen deutlich mehr adhärente Thrombozyten - zum Teil noch in Ruheform (Artefakt?) - auf dem Endothel als bei den Kontrollversuchen.
- Der Grad der Auflagerung monozytärer Elemente brachte keine signifikant unterschiedlichen Ergebnisse, er war in allen Fällen gering.

Der Vergleich der unterschiedlichen Gefäßpräparationen der Arteria carotis und femoralis (jeweils nicht fixiert und vitalfixiert) brachte folgende Ergebnisse:

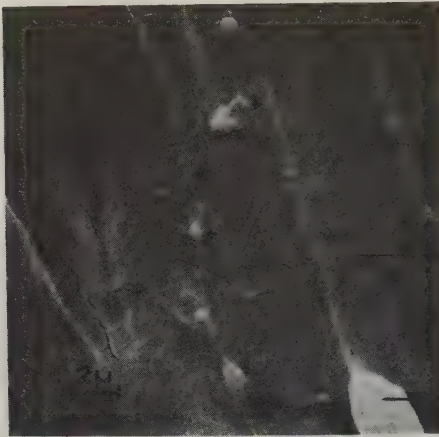
- Bezüglich des Gefäßendothels mußte die nicht-vitalfixierte A. carotis - selbst bei den raumluftexponierten Tieren - entsprechend des 7-stufigen Beurteilungsschemas (siehe 3.5.1.) signifikant schlechter beurteilt werden. Bei den Zigarettenrauchversuchen erhielten sowohl die nativ entnommene A. carotis wie auch die nativ entnommene A. femoralis signifikant

schlechtere Benotungen als die entsprechend vitalfixierten Gefäße.

- Auch bezüglich der Fibrinauflagerungen schnitt die nicht vitalfixierte A. carotis bei den Kontrollversuchen deutlich schlechter ab.
- Betreffs der Thrombozytenauflagerungen zeigte sich diesmal bei den Zigarettenrauchversuchen, daß auf der nicht vitalfixierten A. carotis signifikant mehr Thrombozyten adhärent waren als bei der vitalfixierten.
- Bei der Beurteilung der monozytären Elemente fanden sich keine Präparationsunterschiede.

Das Versuchstier mit der Nummer 187 wurde an vier aufeinanderfolgenden Tagen jeweils vier Stunden lang Zigarettenrauch ausgesetzt ("Subakut-Versuch"). Ohne irgendwelche Ansprüche auf statistisch relevante Aussagen erheben zu wollen, scheint es sich gut in die Gruppe der anderen zigarettenrauchexponierten Tiere einfügen zu lassen, und zwar sowohl was das Gefäßendothel anbetrifft als auch was die übrigen drei Beurteilungskriterien angeht.

Umgekehrt scheint sich das Tier mit der Nummer 193 gut in die Gruppe der Kontrolltiere einordnen zu lassen. Es wurde einmal vier Stunden lang Zigarettenrauch exponiert. Die Gefäße wurden jedoch erst nach einer Woche entnommen ("Regressionsversuch").



einzelne adhärente Thrombozyten (+) in -geringem- Gestaltwandel (visköser Metamorphose)

Nukleus

Endothel

möglicherweise mono-nukleäre Zelle

Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der Intima der Arteria carotis eines Miniaturschweins nach eintägiger vierstündiger Zigarettenrauchexposition;
Primärvergrößerung 4500x



Endothel

viele Thrombozyten (einige sind mit (+)markiert) in typischem Gestaltwandel (zu unterschiedlichen Adhärenzzeiten)

Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der Intima der Arteria femoralis eines Miniaturschweins nach mehrtägiger Exposition gegenüber Zigarettenrauch;
Primärvergrößerung 2000x

4.4.2. Transmissionselektronenmikroskopie

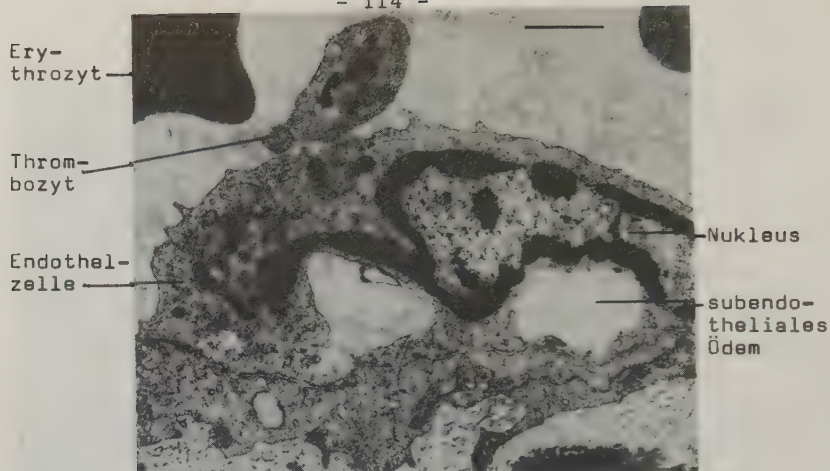
Die in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. J. Staubesand, Freiburg, gewonnenen - noch vorläufigen - Ergebnisse in der Transmissionselektronenmikroskopie ergaben bei den zigarettenrauchexponierten Tieren gegenüber den raumluft-exponierten Tieren deutliche Veränderungen (194).

Tabelle 17: Initiale Endothelveränderungen auf transmissionselektronenmikroskopischer Ebene (vorläufige Ergebnisse)

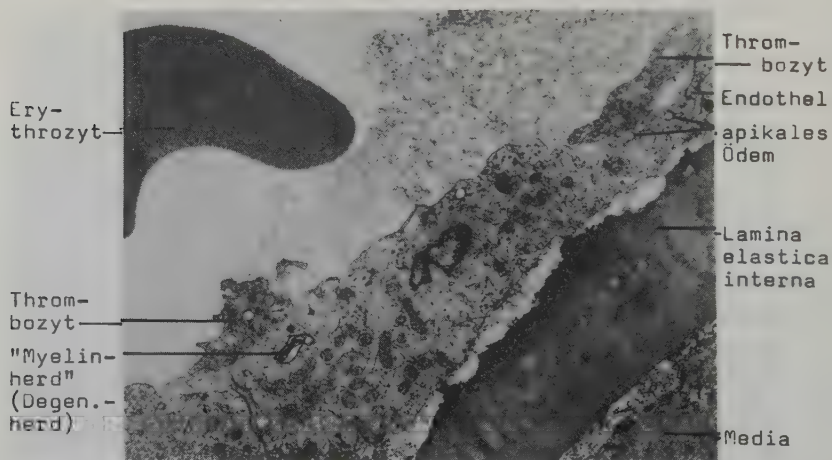
	RAUMLUFT	ZIGARETTEN- RAUCH
Mononukleäre Elemente	+ (3%)	++
Vakuolisierung des Zytoplasmas	Ø	+
Osmiophile Schrumpfnekrosen	Ø	+
Thrombozytenadhäsionen	Ø	+

Beim Schwein entfallen bereits normalerweise 3 mononukleäre Zellen auf jeweils 100 Endothelzellen (lichtmikroskopische Untersuchungen von Freudenberg und Würdinger, Freiburg 1979, an Häutchenpräparaten der Intima von Koronararterien normaler Hausschweine (Schlachthofmaterial)).

Bei der noch als vorläufig zu betrachtenden semiquantitativen Blindauswertung der transmissionselektronenmikroskopischen Aufnahmen fanden sich bei zigarettenrauchexponierten Tieren deutlich mehr mononukleäre Zellen. Außerdem trat hier auch eine deutliche Vakuolisierung des Zytoplasmas der Endothelzellen sowie einzelne osmiophile Schrumpfnekrosen auf (Tab. 17). Die Adhäsion von Thrombozyten und von mononukleären Elementen muß nach diesen Befunden intraendothelialen Schädigungsherden zugeordnet werden.



Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme der Intima der Arteria renalis eines Miniaturschweins nach einmaliger, vierstündiger Exposition gegenüber Kohlenmonoxid (200 ppm); Primärvergrößerung 8500x



Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme der Intima der Arteria renalis eines Miniaturschweins nach einmaliger, vierstündiger Exposition gegenüber Kohlenmonoxid (200 ppm); Primärvergrößerung 5200x

5. DISKUSSION

Das Hauptanliegen dieser Versuchsserie war in der Entwicklung und Erprobung eines möglichst physiologischen arteriellen Angiopathiemodells zu sehen, d.h. in der Induktion eines Thrombozytenparietalthrombus am Beispiel des Risikofaktors "inhalierendes Zigarettenrauchen". Die Vorteile des hier aufgezeigten Angiopathiemodells bestanden in einer gewissen Standardisierbarkeit hinsichtlich Tiermaterial, Reizdauer und Operationstechniken, in einer - nach den bisherigen Versuchen - ausreichenden Reproduzierbarkeit sowie im Auftreten von Veränderungen in sehr kurzer Zeit.

Auf die besondere Eignung des Miniaturschweins für die experimentelle Medizin und die Arterioskleroseforschung wurde bereits hingewiesen (siehe 2.3.5. und 2.3.6.).

Entscheidender Nachteil ist grundsätzlich der relativ große Aufwand bezüglich des Experiments und der Auswertung, weswegen man sich mit vergleichsweise niedrigen Versuchszahlen zufrieden geben muß. Auch haften einer Bewertung morphologischer Veränderungen immer subjektive Momente an, so sehr man sich auch bemüht, exakt definierte und objektive Beurteilungskriterien dafür aufzustellen. Ebenso ließ sich nicht abgrenzen, inwieweit die Narkose das Versuchsergebnis beeinflusste. Als Kritik sei noch angemerkt, daß das Modell bezüglich der Standardisierung des Angiopathiereizes Zigarettenrauch verbesserungsfähig wäre; insbesondere sollte es bei zukünftigen Versuchen gelingen, immer annähernd gleich hohe Karboxyhämoglobinspiegel bei in etwa konstanten Kohlenmonoxidkonzentrationen zu erreichen.

Das grundlegend Wichtige bei der vorliegenden Arbeit waren jedoch die strenge Blindauswertung der raster-elektronenmikroskopischen Aufnahmen von den verschiedenen Gefäßpräparaten nach einem verbesserten Beurteilungsschema, sowie das Mitführen einer Kontrollgruppe. Erstmals verwendeten wir eine vollautomatische Rauchmaschine des INBIFO (Institut für biologische Forschung, Köln) zur Erzeugung eines konstanten Zigarettenrauches unter - in der Literatur anerkannten - standardisierten Bedingungen (35 ml Rauch/s), sowie eine Maske statt der früher verwendeten Rauchkammer zur sicheren Applikation des Zigarettenrauches. Dadurch wurden störende Faktoren, wie Engegefühl in der Kammer, Augenreizungen durch den Zigarettenrauch, sowie zusätzliche Hautresorption von Nikotin vermieden. Ein weiterer Vorteil war, daß die Tiere während der Versuche - allerdings eingeeengt - in ihren gewohnten Käfigen belassen werden konnten.

Zur Bestimmung der Thrombozytenadhäsivität wurde der sogenannte Fasertest nach Jacobi (107) neu in das Untersuchungsprogramm aufgenommen.

Außerdem wurde diesmal neben der raster-elektronenmikroskopischen auch eine transmissionselektronenmikroskopische Aufarbeitung der verschiedenen Gefäßpräparate vorgenommen.

Obwohl sich in den früheren Versuchen unserer Arbeitsgruppe kein Hinweis ergeben hatte, daß die Tiere unter dem gewählten Versuchsaufbau einem relevanten Streß unterlägen, der die Ergebnisse hätte beeinflussen können (151, 158), war dieses Problem in letzter Zeit immer wieder diskutiert worden. Auf Grund des allgemeinen Verhaltens der Tiere während der Versuche und der normalen Gewichtsentwicklung bei den länger dauernden Versu-

chen scheint dem Faktor Streß bei diesen Untersuchungen keine ausschlaggebende Bedeutung zuzukommen. Auch die Bestimmung von Pulsfrequenz, Hämatokrit und Rektaltemperatur, die bei einer ganzen Reihe von Versuchen neuerdings in regelmäßigen Abständen durchgeführt wurde, ergab keinen Anlaß zu der Vermutung, die Tiere stünden unter einem besonderen Streß. Außerdem zeigten die Kontrollversuche mit Raumluft unter vergleichbaren Versuchsbedingungen keinerlei Veränderungen.

Im Rahmen der früher durchgeführten Versuche kam es unter Zigarettenrauchexposition zu einem mittleren Anstieg der Blutviskosität (um 22%) und des Hämatokrits (um 5,5%), den wir in diesen Versuchen nicht bestätigen konnten. Die damaligen Veränderungen scheinen durch die anderen Versuchsbedingungen hervorgerufen worden zu sein (Rauchkammer). Möglicherweise kam es bei den Tieren in der Rauchkammer auch zur zusätzlichen Hautresorption von Nikotin, oder die Versuchsanordnung bedeutete insgesamt einen größeren Streß für die Tiere.

Eigene Versuche mit Nikotininfusionen zeigten einen signifikanten Anstieg sowohl des Hämatokrits als auch der Blut- und Plasmaviskosität.

Übereinstimmend mit den früheren Rauchversuchen fanden wir keine signifikante Änderung der Plasmaviskosität und des Fibrinogens.

Um einen weiteren Einblick in die möglicherweise gestörten Fließeigenschaften des Blutes, besonders im Bereich der Endstrombahn, zu gewinnen, wurde diesmal auch die Erythrozytenflexibilität bzw. -filterabilität untersucht. Es fand sich jedoch nur ein interessanter Nebenbefund in Form eines zwar signifikanten aber gleichen Anstiegs der Erythrozytenflexibilität bei den

Rauchtieren wie bei den Kontrolltieren, der am ehesten mit den im Verhältnis zum Körpergewicht der Tiere relativ großen Blutentnahmen erklärt werden kann. Auf die Problematik der Bestimmung und Bedeutung der Erythrozytenfilterabilität und die erst in neuester Zeit verbesserten und vereinheitlichten Bestimmungsmethoden sei hier nur am Rande hingewiesen!

Die Erhöhung der Plättchenaggregationsneigung (PAT) um eine halbe bzw. eine ganze Stufe in unseren früheren Studien konnten wir hier nicht bestätigen, dagegen fanden wir eine signifikante Zunahme der Plättchenzahl und der Plättchenadhäsivität (Fasertest). Die Fragen, wie es zu dem Anstieg der Thrombozyten nach Zigarettenrauchexposition kommt - möglicherweise durch Freisetzung aus Speichern (Milz ?) - und ob die neu im Blut auftretenden Thrombozyten besonders adhäsionsbereit sind, können vorerst nicht zufriedenstellend beantwortet werden.

Ihr morphologisches Korrelat fanden die obigen Befunde in den eindrucksvollen Ergebnissen der rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen. Auf dem Endothel zigarettenrauchexponierter Tiere fanden sich deutlich häufiger adhärent gewordene Thrombozyten als bei den Tieren, die lediglich synthetische Luft inhaliert hatten. Eine parallellaufende Untersuchung, welche kohlenmonoxidexponierte (200 ppm CO) Tiere mit Kontrolltieren verglich, kam zu übereinstimmenden Ergebnissen (247).

Im Rahmen dieser Untersuchungen konnten nicht nur Thrombozytenadhäsionen gesichert, sondern auch - allerdings geringe - Endothelveränderungen und Fibrinauflagerungen nachgewiesen werden. Weiterhin fanden sich - wenn auch statistisch nicht signifikant - thrombozyten-

ähnliche, jedoch wesentlich größere Zellen, vermehrt auf dem Endothel, die als mononukleäre Elemente gedeutet werden müssen.

All diese genannten Befunde wurden nach ganz kurzzeitigen Versuchen erhoben, stellen also initialste Veränderungen dar und scheinen sich - wie unser Regressionsversuch (Tier Nr. 193) zeigte - zumindest teilweise wieder zurückbilden zu können.

Den rasterelektronenmikroskopischen ganz entsprechende Befunde ergab auch die - noch als vorläufig zu betrachtende - semiquantitative Blindauswertung der transmissionselektronenmikroskopischen Aufnahmen. Beim Schwein entfallen bereits normalerweise drei mononukleäre Zellen auf jeweils hundert Endothelzellen (siehe 4.4.2.). Bei zigarettenrauchexponierten Tieren fanden sich jedoch deutlich mehr mononukleäre Zellen. Außerdem traten hier eine deutliche Vakuolisierung des Zytoplasmas der Endothelzellen sowie einzelne osmiophile Schrumpfnekrosen auf. Die Adhäsion von Thrombozyten (selten) und von mononukleären Elementen (häufiger) muß nach diesen transmissionselektronenmikroskopischen Befunden intraendothelialen Defektherden zugeordnet werden.

Die Thrombozyten sind also offenbar in der Lage, Schädigungen in der Gefäßwand frühzeitig zu erkennen, noch bevor wir sie mit dem Auge des Rasterelektronenmikroskops auf dem Gefäßendothel zuverlässig erfassen können. (Möglicherweise übermitteln Calcium-Ionen die Information für die Thrombozyten, auf geschädigten Endothelzellen adhärent zu werden.)

Die Ergebnisse der beschriebenen Versuche lassen sich in die früheren Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe einreihen und bestätigen die darauf basierende Theorie

mit der Einschränkung, daß es offenbar unter Einwirkung der Angiopathiemodelle immer auch zu - gegebenenfalls nur minimalen - Endothelschädigungen kommt. Hierbei muß unser von früheren Techniken abweichendes Aufnahmeschema der rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen hervorgehoben werden: Stereotyp wurden die Bilder nach dem beschriebenen Zick-Zack-Muster erstellt, ohne auf vielleicht besonders markante Veränderungen gezielt einzugehen, oder offenkundige Präparationsschäden oder Artefakte bei der Aufnahme auszuschließen (siehe auch 3.5.1.). Ferner besteht möglicherweise ein Effekt auf das fibrinolytische System, der die Fibrinauflagerungen bei den Zigarettenrauchversuchen erklären könnte (115, 124). Es darf nicht unerwähnt bleiben, daß all diese Befunde nach ganz kurzzeitigen Versuchen erhoben wurden, also als initialste Veränderungen zu sehen sind. Sie lassen keine Rückschlüsse auf die weitere Entwicklung bei chronischem Rauchen zu. Dazu müssen noch entsprechend langfristige Versuche durchgeführt werden.

Aber auch andere Untersucher, wie Murphy und Mustard (182), wiesen immer wieder auf die spezielle Bedeutung der Thrombozyten in der Pathogenese der Arteriosklerose hin.

Murchison und Fyfe (181) fanden bereits nach Rauchen von nur zwei Zigaretten, verglichen mit Scheinrauchen, eine erhöhte Thrombozytenzahl neben einer erhöhten Thrombozytenadhäsivität an Fremdoberflächen.

Moore et al. (178, 179) konnten zeigen, daß die Entwicklung einer arteriosklerotischen Läsion nach wiederholter Verletzung der Intima von Arterien durch die Applikation eines antithrombozytären Serums verhindert werden kann, was bei den Tieren zu einer Thrombozytopenie

führte. Sie deuteten dies als Hinweis dafür, daß der thrombotische Prozeß, mit dem die wiederholte Intima-verletzung einhergeht, eine zentrale Rolle in der Pathogenese arteriosklerotischer Veränderungen spielt und für ihre Entstehung entscheidender ist als die Alteration der Gefäßwand. Umgekehrt konnte gezeigt werden, daß es bei cholesterinreich gefütterten Kaninchen durch eine induzierte Thrombozytose zu einer Erhöhung der spontanen Arterioskleroserate kommt (42).

Nach unseren Untersuchungen kommt es durch das Einwirken verschiedener Noxen - unter denen sich die bekannten Risikofaktoren, wie das inhalierende Zigarettenrauchen und wahrscheinlich auch das Kohlenmonoxid befinden - zu einer Störung der Gefäßwand-Blut-Homöostase, wobei wir in der Alteration der Thrombozyten und gegebenenfalls des Endothels einen zentralen Angriffspunkt sehen. Ob dies direkt oder sekundär via noxebedingte Endothelveränderungen geschieht, läßt sich noch nicht sicher entscheiden, obwohl unsere Befunde eher für die erste Möglichkeit sprechen.

Der Thrombozyt wird aus seiner Ruheform, in der er keine Tendenz hat, mit anderen Blutplättchen zu aggregieren oder an einer unverletzten Gefäßwand adhärent zu werden, in seine Reizform transformiert - er wird hyperreaktiv (100, 101, 102, 155). Diese Metamorphose findet ihr morphologisches Korrelat in einem Übergang aus einer elliptischen in eine sphärische Gestalt und der Ausbildung dünner Fortsätze, sogenannter Pseudopodien. In dieser Form sind die Thrombozyten klebriger und bestrebt, mit anderen Plättchen des strömenden Blutes Aggregate zu bilden und/oder am Gefäßendothel festzuhaf-

ten - vor allem durch Änderung elektrostatischer Kräfte (153).

Im Verlauf dieser Plättchenadhäsion werden die Thrombozytenorganellen aktiv entspeichert - release reaction - (31, 141, 161), wobei eine große Anzahl hochpotenter Substanzen freigesetzt wird, von denen zwei besonders hervorzuheben sind: "platelet permeability factor(s)" (79, 183, 184, 185) und "platelet mitogenic factor" (32, 85, 204) (siehe Abb. 4).

Der "permeability factor" führt zu einer Permeabilitäts-erhöhung des Gefäßwandendothels, wobei zwei Mechanismen möglich sind: eine Veränderung der endothelialen Membranstruktur oder eine temporäre Endothelkontraktion mit der Ausbildung von Lücken zwischen den Endothelzellen (18, 167, 216). Durch diese Veränderung kommt es zu einem Einstrom von Plasma bzw. Plasmabestandteilen in die Gefäßwand, so daß feinste Ödemherde entstehen (68). Die alterierte Endothelschranke ermöglicht auch eine Aufnahme von Fett (z.B. von LDL), welches im Interstitium abgelagert oder von den Endothelzellen und Makrophagen aufgenommen werden kann. Auch aus der Gefäßmedia in die Intima eingewanderte glatte Muskelzellen können dieses Fett speichern und zu myogenen Schaumzellen ("foam cells") werden (166).

Zu diesem Einwandern werden die Mediamyozyten durch die zweite wichtige Substanz, den "mitogenic factor" angeregt. Dieser Faktor ist imstande, die ruhende, kontraktile glatte Muskelzelle (k-Myozyt) als pluripotente Mesenchymzelle zur Proliferation anzuregen und in eine modifizierte, metabolisch aktivierte Muskelzelle

(m-Myozyt) umzuwandeln (88, 201). Diese modifizierten glatten Muskelzellen sind unter anderem zu Leistungen wie abnorme Fasersynthese, Lipidspeicherung und Migration befähigt (89, 162, 203).

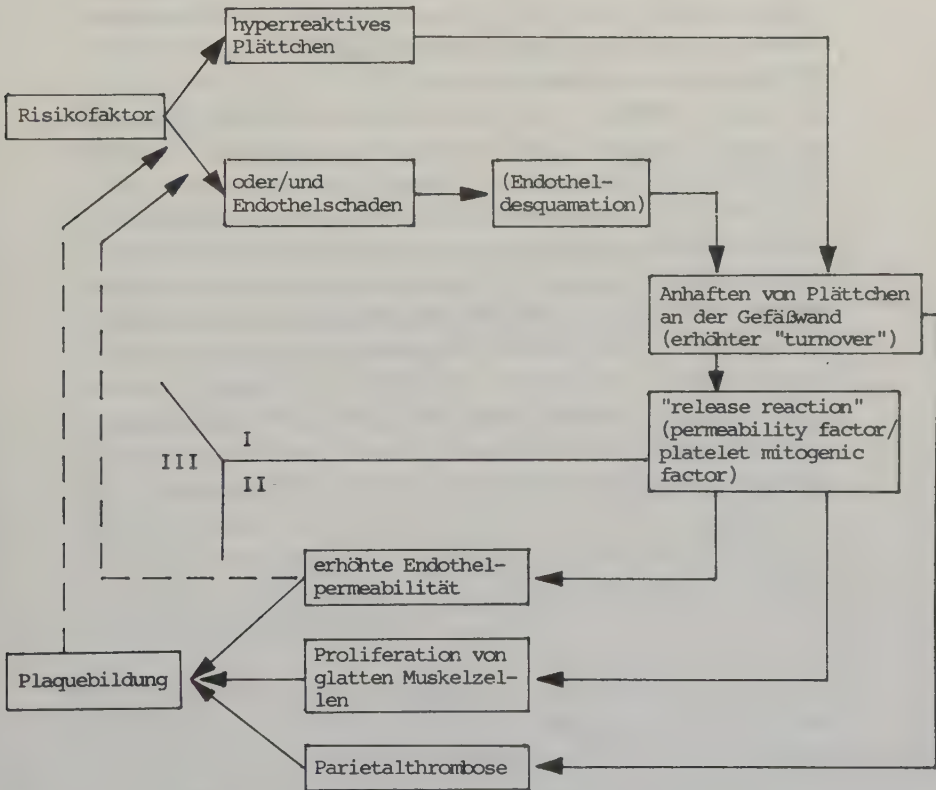


Abbildung 4: Atherogeneseschema unter besonderer Berücksichtigung der Rolle der Blutplättchen, des Endothels und der Gefäßwandmyozyten. I = Stadium der drohenden Arteriosklerose; II = Stadium der frühen Atherogenese, III = Stadium der irreversiblen Arterio-pathie (aus 152).

Zusammenfassend kann festgehalten werden, daß für das Risiko der Angiopathieentstehung durch inhalierendes Zigarettenrauchen das Kohlenmonoxid ein entscheidender Faktor zu sein scheint, wenn auch dem Nikotin in bezug auf mehrere Wirkungen synergistische Eigenschaften zukommen können (154, 271); wobei direkte und indirekte Wirkungsmechanismen auf Endothelzellen und insbesondere Thrombozyten zu diskutieren sind.

Im Hinblick auf neuere Untersuchungen anderer Arbeitsgruppen (4,11) muß die Suche nach weiteren atherogenen Substanzen im Tabakrauch fortgesetzt werden.

Als praktische Konsequenz ergibt sich daraus, daß es bezüglich des Angiopathierisikos nicht ausreicht, den Nikotin- und Teergehalt der Zigaretten zu senken. Auch das Kohlenmonoxid im Zigarettenrauch müßte deutlich vermindert werden. Sehr leichte Zigaretten mit einem Nikotingehalt unter 1 mg haben auch einen niedrigeren CO-Gehalt im Rauch und bedeuten damit möglicherweise insgesamt ein geringeres Risiko (271), sofern von diesen Zigaretten nicht entsprechend mehr geraucht werden (!).

6. ZUSAMMENFASSUNG

Es wird eine Literaturübersicht gegeben über die Epidemiologie und die Bedeutung der Risikofaktoren für die Arteriosklerose. Auf die Rolle von Nikotin und Kohlenmonoxid - als wichtige Bestandteile des inhalierten Zigarettenrauchs - in der Atherogenese wird hingewiesen, wobei in Zukunft sicher noch weitere Inhaltsstoffe im Tabakrauch untersucht werden müssen. In der experimentellen Medizin, insbesondere in der experimentellen Arterioskleroseforschung verwendete Tiermodelle werden vorgestellt, und das Miniaturschwein wird als besonders geeignetes Modell vergleichend diskutiert. Verschiedenste aktuelle Theorien über die Pathogenese der Arteriosklerose werden dargestellt.

Im experimentellen Teil wird versucht, ganz initiale Veränderungen von Arterienwand, Blutrheologie und Thrombozytenfunktion nach Zigarettenrauchinhalation beim Miniaturschwein unter möglichst streng standardisierten Bedingungen zu erfassen. Eine Kontrollgruppe von Tieren, die synthetischer Luft ausgesetzt war, wird vergleichend mituntersucht.

Bestimmt werden Laborparameter, die Schlüsse auf die Blutrheologie und Thrombozytenfunktion zulassen. Die Beurteilung der Arterien erfolgt mit Hilfe der Raster- und Transmissionselektronenmikroskopie nach einem "blinden" Auswertungsverfahren. Die hierfür verwendeten Methoden und Materialien werden beschrieben.

An Hand der tierexperimentell gewonnenen Daten kann gezeigt werden, daß Zigarettenrauch (und wahrscheinlich auch Kohlenmonoxid (247)) in der Lage ist, eine Thrombozytenadhäsion am Gefäßendothel auszulösen. Ferner ist ein Einfluß auf das Endothel zu diskutieren. Ebenso findet sich ein signifikanter Anstieg der Thrombozytenzahl und der Plättchenadhäsivität nach Zigarettenrauchinhalation.

Ausdrücklich sei noch einmal darauf hingewiesen, daß all diese Befunde nach ganz kurzzeitigen Versuchen erhoben wurden, also als initialste Veränderungen zu sehen sind. Sie lassen keine Rückschlüsse auf die weitere Entwicklung bei chronischem Rauchen zu. Dazu müssen noch entsprechend langfristige Versuche durchgeführt werden.

7. LITERATURVERZEICHNIS

1. Adams, C.W.M.: Tissue changes and lipid entry in developing atheroma. Ciba Foundation. Symposium 12, 1973. Elsevier Excerpta Medica, North Holland, Amsterdam
2. Anderson, E.W., Andelmann, J., Strauch, J.M.: Effect of low-level carbon monoxide exposure on onset and duration of angina pectoris. A study in ten patients with ischemic heart disease. Ann. Intern. Med. 79:46, 1973
3. Anitschkow, N.: Über die Veränderungen der Kaninchenaorta bei experimenteller Cholesterinsteatose. Beitr. Pathol. Anat. Allg. Pathol. 56:379-404, 1913
4. Armitage, A.K., Davies, R.F., Turner, D.M.: The effects of carbon monoxide on the development of atherosclerosis in the White Carneau pigeon. Atherosclerosis 23:333-344, 1976
5. Armstrong, M.L., Warner, E.D. Morphology and distribution of diet-induced atherosclerosis in rhesus monkeys. Arch. Path. 92:395-401, 1971
6. Aronow, W.S.: Carbon monoxide and cardiovascular disease. In: Wynder, E.L., Hoffmann, D., Gori, G.B.: Proceedings 3rd World Conference Smoking and Health. Vol. 1, Publ. No. 76-1221 (NIH): 321, 1975

7. Aronow, W.S., Cassidy, J., Vangrow, J.S., March, H.: Effect of cigarette smoking and breathing carbon monoxide on cardiovascular hemodynamics in anginal patients. *Circulation* 50:340-347, 1974
8. Aronow, W.S., Goldsmith, J.R., Kern, J.C., Cassidy, J., Nelson, W.H., Johnson, L.L., Adam, W.: Effect of smoking cigarettes on cardiovascular hemodynamics. *Arch. Environ. Health* 28:330, 1974
9. Aronow, W.S., Stemmer, E.A., Zweig, S.: Carbon monoxide and ventricular fibrillation threshold in normal dogs. *Arch. Environ. Health* 34:184, 1979
10. Astrup, P.: Some physiological and pathological effects of moderate carbon monoxide exposure. *Brit. Med. J.* 2:447, 1972
11. Astrup, P.: Reevaluation of the atherogenic effects of carbon monoxide. 1. Wissenschaftliches Symposium des Forschungsrates Rauchen und Gesundheit, Hamburg, 12.1.1978
12. Astrup, P., Kjeldsen, K.: Carbon monoxide, smoking and atherosclerosis. *Med. Clin. of North. Am.* 2:323, 1974
13. Astrup, P., Kjeldsen, K.: Model studies linking carbon monoxide and/or nicotine to arteriosclerosis and cardiovascular disease. *Prev. Med.* 8:295-302, 1979

14. Astrup, P., Kjeldsen, K., Wanstrup, J.: Enhancing influence of carbon monoxide on the development of atheromathosis in cholesterol fed rabbits. J. Atheroscler. Res. 7:343, 1967
15. Balis, J.U., Haust, M.D., More, R.H.: Electron-microscopic studies in human atherosclerosis. Cellular elements in aortic fatty streaks. Exp. Molec. Pathol. 3:511-525, 1964
16. Beaumont, J.L., Beaumont, V.: Immunological factors of atherosclerosis. In: Schettler, G., Weizel, A.: Atherosclerosis III: 579-590, 1974, Springer, Berlin-Heidelberg
17. Beaumont, J. L., Kactot, B., Beaumont, V., L' hyperlipidémie par auto-anticorps. Une cause d'athérosclérose. Presse Med. 75:2315-2320, 1967
18. Becker, C.G., Murphy, G.E.: Demonstration of contractile protein in endothelium and cells of the heart valves, endocardium, intima, arteriosclerotic plaques, and Aschoff bodies of rheumatic heart disease. Am. J. Path. 55:1-37, 1969
19. Becker, L.C., Haak jr, E.D.: Augmentation of myocardial ischemia by low level carbon monoxide exposures in dogs. Arch. Environ. Health 34:274, 1979
20. Benditt, E.P.: Evidence for a monoclonal origin of human atherosclerotic plaques and some implications. Circulation 50:650-652, 1974

21. Benditt, E.P.: Implications of monoclonal character of human atherosclerotic plaques. *Am. J. Path.* 86:693-702, 1977
22. Best, L.C., Jones, P.B.B., Mc Guire, M.B., Russell, R.G.G.: Thromboxane B₂ production and lipid peroxidation in human blood platelets. In: *Advances in Prostaglandin and Thromboxane Research*. Vol. 6, Eds.: Samuelsson, B., Ramwell, P.W., Paoletti, P., Raven Press, New York, p. 297, 1980
23. Birnstingl, M.A., Brinson, K., Chakrabarti, B.K.: The effect of short-term exposure to carbon monoxide on platelet-stickiness. *Brit. J. Surg.* 58:837-839, 1971
24. Bollinger, A., Luthy, E., Jenny, E.: Vollblutviskosität bei verschiedenen Schergeschwindigkeiten und ihre Beeinflussung durch niedermolekulares Dextran. *Klin. Wschr.* 18:939-943, 1967
25. Braun, W., Buchholz, W., Barth, J., Nitzschner, H.: Das Schwein als Versuchstier unter thermischer und medikamentöser Belastung - Methodik der Versuchstechnik. *Z. Ges. Exp. Med.* 154:60-69, 1971
26. Brecher, G., Cronkite, E.P.: Morphology and enumeration of human blood platelets. *J. Appl. Physiol.* 3:365-377, 1950
27. Breddin, K.: Die Thrombozytenfunktion bei hämorrhagischen Diathesen, Thrombosen und Gefäßkrankheiten. F.K. Schattauer-Verlag, Stuttgart-New York, 1968

28. Brown, C. H., Leverett, L.B., Lewis, C.W., Alfrey, C.P., Hellums, J.D.: Morphological, biochemical, and functional changes in-human platelets subjected to shear stress. J. Lab. Clin. Med. 86:462-471, 1975
29. Brown, M.S., Faust, J.R., Goldstein, J.L.: Role of low density lipoprotein receptor in regulating the content of free and esterified cholesterol in human fibroblasts. J. Clin. Invest. 55:783-793, 1975
30. Burch, G.E.: Viruses and arteriosclerosis. Am. Heart J. 87:407-412, 1974
31. Burns, E.R., Friedman, R.J., Tiell, M.L., Spaet, T.H., Stemmerman, M.B.: Platelet activity in pathogenesis of atherosclerosis. N. Engl. J. Med. 295:1199-1200, 1976
32. Busch, C., Heldin, C.H., Wasteson, A., Westermark, B.: Stimulation of endothelial cell proliferation by a factor released from human platelets. Bibl. Anat. 16:219-222, 1977
33. Campbell, J.A.: Comparison of pathological effects of prolonged exposure to carbon monoxide with those produced by very low oxygen pressure. Brit. J. Exper. Path. 10:304-311, 1929
34. Carlson, L.A., Böttiger, L.E.: Ischaemic heart disease in relation to fasting values of plasma triglycerides and cholesterol. Lancet I, 865, 1972

35. Caro, C.G., Fitz-Gerald, J., Schroter, R.: Atheroma and arterial wall shear. Observation, correlation and proposal for a shear dependent mass transfer mechanism for atherogenesis. *Pro. R. Soc. Lond. (Biol.)* 117:109, 1971
36. Chandler, A.B.: Thrombosis in the Development of Coronary Atherosclerosis. In: *Atherosclerosis and Coronary Heart Disease*, p. 28-34, Grune and Stratton, New York, 1972
37. Chevalier, R.B., Krumholz, R.A., Ross, J.C.: Reaction of non-smokers to carbon monoxide inhalation: cardiopulmonary responses at rest and during exercises. *JAMA* 198:1061, 1966
38. Clarkson, T.B.: Animal models of atherosclerosis. In: *Brandley, C.A., Cornelius, C.E.: Advances in veterinary science and comparative science*. New York, Academic Press 16:151-173, 1972
39. Clarkson, T.B., Lofland, H.B.: *Circ. Res.* 9:106, 1961
40. Clarkson, T.B., Prichard, R.W., Netsky, M.G., Lofland, H.B.: *Arch. Pathol.* 143, 1959
41. Clauss, A.: Gerinnungsphysiologische Schnellmethode zur Bestimmung des Fibrinogens. *Acta Haematol.* 17:237-246, 1957

42. Cohen, P., Mc Combs, H.L.,: Platelets and atherogenesis. I. Augmentation of cholesterol atherogenesis in rabbits by a phlebotomy programme designed to induce thrombocytosis. J. Exp. Path. 48:346-356, 1967
43. Colantuoni, G., Hellums, J., Moake, J.L., Alfrey, C.P.: The response of human platelets to shear stress at short exposure time. Trans. Am. Soc. Artif. Int. Organs 23:226-231, 1977
44. Constantinides P.: Experimental atherosclerosis. Amsterdam, Elsevier, p. 43-66, 1965
45. Constantinides, P.: The role of the endothelium in atherosclerosis. Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 81:839-843, 1975
46. Constantinides, P.: Die Bedeutung von Endothel und Blutplättchen in der Pathogenese der Atherosklerose. Triangle 15:53-61, 1976
47. Dahme, E.: Die Bedeutung der nichtexperimentellen Arteriosklerose des Schweins für die Pathologie. Verh. Dtsch. Ges. Path. 47:382-387, 1963
48. Dahme, E.: Das Schwein, ein Versuchstier für die experimentelle Arterioskleroseforschung. Z. Ges. Exp. Med. 145:305-311, 1968

49. Dahme, E., Kalich, J., Kaiser, E., Freytag von Loringhoven, K., Stavrou, D.: Studie zur Atherosklerosegenese beim Hanford-Miniaturschwein unter normalen und experimentellen Bedingungen. *Atherosclerosis* 14:153-168, 1971
50. Dauber, D.V.: *Arch. Path.* 38:46, 1944
51. Davies, R.F., Topping, D.L., Turner, D.M.: The effect of intermittent carbon monoxide exposure on experimental atherosclerosis in the rabbit. *Atherosclerosis* 24:527, 1976
52. Dawler, T.R., Kannel, W.B., Revotskie, N., Stakes, J., Kagan, A., Gordon, T.: Some factors associated with the development of coronary heart disease. Six years follow up experience in the Framingham Study. *Amer. J. Pub. Health* 49:1349, 1959
53. Day, Ch. E., Stafford, W.W.: In: *Lipids, Lipoproteins and Drugs*. Plenum Press, New York, p. 339, 1975
54. Diehm, C., Müller-Bühl, U., Mörl, H., Zimmermann, R., Schettler, G.: Die Bedeutung von Prostazyklin (PGI_2) bei peripherer arterieller Verschlusskrankheit. *Angiocardiol.* 3:224-231, 1981
55. Dimigen, J., Reetz, J.: Versuche zur Schmerzausschaltung beim Schwein mit dem Neuroleptikum Azaperon und dem Hypnotikum Metomidat. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 77:470-488, 1970

56. Doerr, W.: Perfusionstheorie der Arteriosklerose.
In: Bergmann, W., Doerr, W.: Zwanglose Abhandlungen aus dem Gebiet der normalen und pathologischen Anatomie. Heft 13, 1963. Thieme Verlag, Stuttgart
57. Donald, R.A., Salisbury, S., Murphy, S., Nabarro, J.D.: The plasma corticotropin response to insulin hypoglycaemia, lysine-vasopressine and metyrapone in pigs. J. Endocr. 41:509-518, 1968
58. Douglas, W.R.: Space Life Sci. 3:226, 1972
59. Downie, H. G., Mustard, J.F., Rowsell, H.C.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 104:539, 1963
60. Forth, W., Henschler, D., Rummel, W.: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. 3. Aufl. - Mannheim, Wien, Zürich - Bibliograph. Institut, 1980, S. 631-638
61. Freis, E.D.: Amer. J. Med. 52:664, 1972
62. French, J.E., Jennings, M.A., Florey, H.W.: Morphological studies on atherosclerosis in swine. Ann. N.Y. Acad. Sci. 127:780-799, 1965
63. Frost, H.: Endothelschädigungen und Abscheidung von Elementen des strömenden Blutes als initiales Geschehen in der Pathogenese der Arteriosklerose. Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 78:1139-1145, 1972

64. Frost, H., Hess, H., Richter, J.: Untersuchungen zur Pathogenese arterieller Verschlußkrankheiten. I. Eine neue Methode zum Studium früher Veränderungen auf der Gefäßwand. Klin. Wschr. 46:1099-1104, 1968
65. Frost, H., Hess, H., Richter, J.: Untersuchungen zur Pathogenese arterieller Verschlußkrankheiten. II. Beobachtungen mit dem Rasterelektronenmikroskop über die Reparation von Endotheldefekten an Arterien. Klin. Wschr. 47:245-249, 1969
66. Fry, D.L.: Acute vascular endothelial changes associated with increased blood velocity gradient. Circ. Res. 22:165-197, 1968
67. Fry, D.L.: Certain chemorheologic considerations regarding the blood vascular interface with particular reference to coronary artery disease. Circulation (Suppl. IV) 40:38-59, 1969
68. Fuchs, U., Jobst, M., Gepp, G., Gottschild, D.: Die Permeabilität der arteriellen Gefäßwand für markiertes Blutplasma-Protein. Z. Ges. Inn. Med. 33:602-604, 1978
69. Geer, J.C.: Fine structure of human aortic intimal thickening and fatty streaks. Lab. Invest. 14:1764-1783, 1965
70. Geer, J.C., Mc Gill, H.C., Strong, J.P.: The fine structure of human atherosclerotic lesions. Am. J. Pathol. 38:263-287, 1961

71. Glogov, S., Romley, D.A., Kohut, R.J.: Atherosclerosis of human aortas and its coronary and renal arteries. Arch. Path. 72:558, 1961
72. Glynn, M.F., Mustard, J., Buchanan, M., Murphy, E.: Cigarette smoking and platelet aggregation. Can. Med. Ass. J. 95:549, 1966
73. Goldstein, J.L., Brown, M.S.: Binding and degradation of low density lipoproteins by cultured human fibroblasts. Comparison of cells from a normal subject and from a patient with homozygous familial hypercholesterolemia. J. Biol. Chem. 249:5153-5162, 1974
74. Goldstein, J.L., Brown, M.S.: Familial hypercholesterolemia. A genetic regulatory defect in cholesterol metabolism. Am. J. Med. 58:147-150, 1975
75. Goldstein, J.L., Dana, S.E., Brown, M.S.: Esterification of low density lipoproteins cholesterol in human fibroblasts and its absence in homozygous familial hypercholesterolemia. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 71:4288-4292, 1974
76. Gordon, T.: High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. The Framingham Study. Amer. J. Med. 62:707, 1977
77. Gottlieb, H., Lalich, J.J.: Occurrence of atherosclerosis in the aorta of swine. Amer. J. Pathol. 30:851-855, 1954

78. Grabowski, E.F.: Roles of blood flow in platelet adhesion and aggregation. Adv. Exp. Med. Biol. 102:73-100, 1978
79. Gresham, G.A.: Early events in atherogenesis. Lancet I (7907):614-615, 1975
80. Gresham, G.A., Howard, A.N.: Aortic rupture in the turkey. J. Atherosclerotic Res. 1:75-78, 1961
81. Grigoleit, H.G.: ATP-Gehalt der Erythrozyten als Maß für ihre Verformbarkeit. Pharmatherapeutika 1:241, 1976
82. Grünberg, W.: Klin. Wschr. 43:479, 1965
83. Gryglewski, R.J., Szczeklik, A., Nizankowski, R.: Thromb. Res. 13:153, 1978
84. Haebisch, H.: Die Zigarette als Kohlenmonoxidquelle. Arch. Toxikol. 26:251-261, 1970
85. Haft, J.I.: Role of blood platelets in coronary artery disease. Am. J. Cardiol. 43:1197-1206, 1979
86. Hammond, E.C.: J. publ. Hlth. 48:1460, 1958
87. Hardin, N.J., Minick, C.R., Murphy, G.E.: Experimental induction of athero-arteriosclerosis by the synergy of allergic injury to arteries and lipid rich diet. III. The role of earlier acquired fibromuscular intimal thickening in the pathogenesis of later developing atherosclerosis. Amer. J. Pathol. 73:301, 1973

88. Harker, L.A., Ross, R., Glomset, J.A.: Role of the platelet in atherogenesis. Ann. N.Y. Acad. Sci. 275:321-329, 1976
89. Harker, L.A., Ross, R., Glomset, J.A.: The role of endothelial cell injury and platelet response in atherogenesis. Thromb. Haemostas. 39:312-321, 1978
90. Hartroft, W.S., Ridout, J.H., Sellars, E.A., Best, C.H.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 81:384, 1952
91. Hauss, W.H.: Mesenchymzellen und die Entwicklung der arteriosklerotischen Läsion. Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 78:1152-1165, 1972
92. Hauss, W.H.: Über die Rolle des Mesenchyms in der Genese der Arteriosklerose. Virchows Arch. Abt. A. Path. Anat. 359:135-156, 1973
93. Hauss, W.H., Lehmann, R., Mey, J., Oberwittler, W.: Über die Rolle der Reaktion von Arterienwandzellen auf Risikofaktoren in der Entstehung der Arteriosklerose und ihre medikamentöse Beeinflussbarkeit. Klin. Monatsbl. Augenheilkd. 170:910-917, 1977
94. Haust, M.D.: The morphogenesis and fate of potential and early atherosclerotic lesions in man. Human. Pathol. 2:1-29, 1971
95. Health Consequences of Smoking. U.S. Department of Health, Education and Welfare Washington, D.C., 1971

96. Henschler, D.: Kohlenoxid. In: Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe. Verlag Chemie, 1, 1979
97. Hermann, W., Massmann, J.: Ursachen und Bedeutung der erhöhten Endothelpermeabilität für die Entstehung der Arteriosklerose. Z. Ges. Inn. Med. 31:721-727, 1976
98. Hess, H.: Neue Überlegungen zur Physiopathologie obliterierender Angiopathien. 1. Zur Regulation der Durchblutung. Fortschr. Med. 88:833-838, 1970
99. Hess, H.: Neue Überlegungen zur Physiopathologie obliterierender Angiopathien. 2. Zur Pathogenese und Therapie. Fortschr. Med. 88:923-928, 1970
100. Hess, H.: Die Bedeutung der Blutplättchen für die Pathogenese der arteriellen Verschlusskrankheiten. Verh. Dtsch. Ges. Kreislafforsch. 40:115-121, 1975
101. Hess, H., Marshall, M.: Influence of platelets on the integrity of the vessel wall. Adv. Exp. Med. Biol. 63:393-398, 1975
102. Hess, H., Marshall, M., Mallasch, M.: Eine einheitliche Theorie der Morphogenese aller obliterierender Angiopathien. VASA 3:373-385, 1974
103. Hess, H., Marshall, M., Mallasch, M.: Zur Pathogenese obliterierender Angiopathien. Med. Welt 25:1180-1185, 1974

104. Heyden, S.: Epidemiology. In: Atherosclerosis, Schettler, F.G., Boyd, G.S., Elsevier Publishing Company Amsterdam, London, New York, 1969
105. Hort, W.: Pathologische Anatomie der Kreislauforgane. In: Eder, M., Gedigk, P.: Lehrbuch der allgemeinen Pathologie und pathologischen Anatomie. 30. Aufl. 297-340, 1977, Springer Verlag, Berlin
106. Hugod, C., Hawkins, L., Kjeldsen, K., Thomson, H.K., Astrup, P.: Effect of carbon monoxide exposure on aortic and coronary intimal morphology in the rabbit. A revaluation. Atherosclerosis 30:333-342, 1978
107. Jacobi, E., Pathophysiologie der Thrombozytenadhäsivität, Verlag Hans Huber, Bern, Stuttgart, Wien 37-40, 1979
108. Jacobi, E., Hagemann, G., Poliwoda, H.: Eine invitro Methode zur Bestimmung der Thrombozytenadhäsivität. Thromb. Diath. Haemorrh. 26:192-202, 1971
109. Jellnik, H.: Stofftransport in der Gefäßwand bei Frühveränderungen der Arteriosklerose. Z. Ges. Inn. Med. 33:599-601, 1978
110. Jones, R.J., Wissler, R.W., Huffman, S.: Arch. Pathol. 63:593, 1957
111. Imai, H., Lee, K.T., Pastori, S., Panlilio, E., Florentin, R., Thomas, W.A.: Atherosclerosis in rabbits. J. Exp. Mol. Path. 47:273, 1966

112. Inter-Society-Commission for Heart Disease Resources. Atherosclerosis study group and epidemiology study group. Primary prevention of the atherosclerotic disease. *Circulation* 42:155, 1970
113. Iverins, P.H.: The interaction between human plasma lipoproteins and connective tissue glycosamine-glycans. *J. Biol. Chem.* 247:2607-2613, 1972
114. Iverins, P.H.: Possible role of glycosamineglycans in atherogenesis. *Ciba Found. Symp.* 12:185-196, 1973
115. Kadish, J.L.: Fibrin and atherosclerosis - a hypothesis. *Atherosclerosis* 33:409-413, 1979
116. Kalich, J., Krumbacher, K., Ruf, B.: Über die Erfahrung bei Zucht und Haltung, sowie einige physiologische Daten des Hanford-Miniaturschweins. *Z. Ges. Exp. Med.* 145:312-325, 1968
117. Kannel, W.J., Castelli, W., Gordon, T., Mc Namara, P.M.: Serum Cholesterol, Lipoproteins, and the risk of coronary heart disease. The Framingham Study. *Ann. int. Med.* 74:1, 1971
118. Kannel, W.J., Dawber, T.R., Friedman, D.G., Glemeon, W.E., Mc Namara, P.M.: Risk factors in coronary heart disease. An evaluation of several serum lipids as predictors of coronary heart disease. The Framingham Study. *Ann. int. Med.* 61:888, 1964

119. Kannel, W.J., Gordon, T.: Coronary heart disease, atherothrombotic brain infarction, intermittent claudication - a multivariate analysis of some factors related to their incidence. In: The Framingham Study, Section 27, 1971, U.S. Department of Health, Education and Welfare, Public Health Service, Nat. Inst. of Health, Washington, D.C.
120. Kershbaum, A., Bellet, S., Hirabayashi, M., Feinberg, L.J.: J. Am. med. Ass. 201:545, 1967
121. Klensch, H.: Direkte und indirekte Nikotinwirkungen. Sandorama, 1976, by Sandoz AG, Basel
122. Knelson, J.H.: United states air quality criteria and ambient standards for carbon monoxide. Verh. Dtsch. Ing. Ber. 180:99, 1972
123. Knipping, G.M.J., Kostner, G.M., Holasek, A.: Studies on the composition of pig serum lipoproteins. Isolation and characterization of different Apo-Proteins. Biochem. biophys. Acta 393:88-99, 1975
124. Kopeć, M.: Fibrinablagerung und Fibrinolyse in Vor- und Frühstadien der Atherosklerose. Z. Ges. Inn. Med. 33:613-615, 1978
125. Kramsch, D.M., Hollander, W.: Occlusive atherosclerotic disease of the coronary arteries in monkey (*Macaca irus*) induced by diet. Exp. Mol. Path. 9:1-22, 1968

126. Kramsch, D.M., Huvos, A., Hollander, W.: A primate model for the study of coronary (atherosclerotic) heart disease. *Circulation* 42:9, 1970
127. Kremer, G.J., Niemczyk, H., Poeplau, W., Nicolescu, R.: Hyperlipoproteinämien bei peripheren arteriellen Verschlusskrankheiten. In: *Störungen des Fettstoffwechsels*, Red: P.Schwandt; Verlagsgesellsch. Otto Spatz, München 1977
128. Kritchevsky, D.: In: *Advances in Drug Research*, Vol. 9, Academic Press, London, p. 41, 1974
129. Kritchevsky, D., Tepper, S.A.: *Nutr. Reports Int.* 8, 163, 1973
130. Kritchevsky, D., Tepper, S.A., Vesselinovitch, D., Wissler, R.W.: Cholesterol vehicel in experimental atherosclerosis. Part. 13: Randomized peanut oil. *Atherosclerosis* 17:225-243, 1973
131. Lambert, G.F., Miller, J.P., Olsen, R.T., Frat, D.V.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 97:544, 1958
132. Lee, K.T., Jarmolych, Y., Kim, D.N., Grant, C., Krasney, J.H., Thomas, W.A., Bruno, A.M.: Production of advanced coronary atherosclerosis, myocardial infarction and "sudden death" in swine. *Exp. Mol. Path.* 15:170-190, 1971
133. Leithner, Chr., Sinzinger, H., Silberbauer, K.: Prostazyklin ein Schutzfaktor für die Blutgefäße. *Fortschr. Med.* 98, 1845-1849, 1980

134. Levine, P.H.: An acute effect of cigarette smoking on platelet function: A possible link between smoking and arterial thrombosis. *Circulation* 48:619-623, 1973
135. Lindner, J.: Morphologische und histobiochemische Befunde am Bindegewebe bei arteriosklerotischen Frühveränderungen. *Z. Ges. Inn. Med.* 33:582-589, 1978
136. Lofland, H.B., Clarkson, T.B., Goodman, H.O.: *Circ. Res.* 9:919, 1961
137. Lowry, H.O., Rosebrough, N., Farr, A., Randall, R.J.: Protein measurement with the folin/phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193:265-275, 1951
138. Luginbühl, H.: Das Schwein als Tiermodell für die Arterioskleroseforschung. *Schweiz. Med. Wschr.* 100:550, 1970
139. Luginbühl, H., Jones, J.E.T.: The morphology of spontaneous lesions in aged swine. In: Roberts, J.C.jr., Straus, R.: *Comparative atherosclerosis*, New York, Harper and Row, p. 3, 1965
140. Lydtin, H., Pieper, M., Kusus, T., Schnelle, K., Zöllner, N.: Die Implantation von Verweilkathetern in die Vena portae, Vena cava, den rechten Vorhof und in den Magen des Miniaturschweins. *Z. Ges. Exp. Med.* 149:279-282, 1969

141. Maca, R.D., Fry, G.L., Hoak, J.C., Loh, P.T.: The effect of intact platelets on cultured human endothelial cells. *Thromb. Res.* 11:715-727, 1977
142. Malinow, M.R., Hojman, D., Pellegrino, A.: *Acta Cardiol.* 5:480, 1954
143. Mann, G.V., Andrus, S.B., Mc Nally, A., Stare, F.J.: Xanthomatosis and atherosclerosis produced by diet in an adult rhesus monkey. *J. Lab. Clin. Med.* 48:533-550, 1956
144. Marble, A.: Long-term diabetes and the effect of treatment. In: *Handbuch des Diabetes mell.*, Band II. Hrsg. E.F. Pfeiffer, München. J.F. Lehmanns 649, 1971
145. Marshall, M.: Intubationsspatel für Miniaturschweine. Erfahrungen über Operationsletalität bei Intubation. *Zentralbl. Vet. Med. A.* 21:84-86, 1974
146. Marshall, M.: Atheroskleroseforschung heute. *Ärztl. Praxis* 28:29-32, 1976
147. Marshall, M.: Arteriosklerose: Fakten und Hypothesen. *Münch. Med. Wschr.* 119:7-9, 1977
148. Marshall, M.: Was leistet die Theorie der monoklonalen Atheromentstehung? *Ärztl. Praxis* 79 (24.Jg.):3258, 1977

149. Marshall, M.: Experimentelle Untersuchungen über die frühe Pathogenese von Arteriopathien am Miniaturschwein, unter besonderer Berücksichtigung der Thrombozyten. Habilitationsschrift, Ludwig-Maximilians-Universität München, 1978
150. Marshall, M.: Tiermodelle zur Atheroskleroseforschung. VASA 7:313-321, 1978
151. Marshall, M.: Atherogenese. Experimentelle Untersuchungen zur Pathogenese obliterierender Arteriopathien am Miniaturschwein. Münch. Med. Wschr. 121:1211-1218, 1979
152. Marshall, M.: Aktuelles in Pathogenese, Diagnostik und Therapie der arteriellen Durchblutungsstörungen. Therapiewoche 30:5769-5780, 1980
153. Marshall, M.: Zur Pathogenese der Arteriopathien: Experimentelle Untersuchungen über die frühe Pathogenese von Arteriopathien unter besonderer Berücksichtigung der Rolle der Thrombozyten. Fortschr. Med. 98:177-179, 1980
154. Marshall, M., Folez, J., De Quiros, J., Hess, H.: Wirkung von Nikotin auf Plättchenaggregation und Blutviskosität beim Miniaturschwein in vivo. VASA 5:287-292, 1976
155. Marshall, M., Hess, H.: Der Thrombozyt - Schlüsselfigur in der Entstehung obliterierender Angiopathien. Coll. Med. 30:1-12, 1975

156. Marshall, M., Hess, H.: Beeinflussung der Blutrheologie und Thrombozytenfunktion durch Nikotin, Kohlenmonoxid und Zigarettenrauch beim Miniaturschwein. In: Mikrozirkulation und Blutrheologie. Ed.: Müller-Wiefel, H., Witzstrock, G., Baden-Baden, 136, 1980
157. Marshall, M., Hess, H.: Akute Wirkungen niedriger Kohlenmonoxidkonzentrationen auf Blutrheologie, Thrombozytenfunktion und Arterienwand beim Miniaturschwein. Res. Exp. Med. 178:201-210, 1981
158. Marshall, M., Hess, H., Staubesand, J.: Experimentelle Untersuchungen über den Risikofaktor Rauchen. VASA 7, Heft 4:389, 1978
159. Marshall, M., Lydtin, H., Krawietz, W., Hagen, R., Schuckert, G., Hess, H., Zöllner, N.: Das Miniaturschwein als Versuchstier in der experimentellen Medizin: Haltung, operative Präparation, Versuchsdurchführung und Normalwerte. Resp. Exp. Med. 157:300-316, 1972
160. Marshall, M., Lydtin, H., Krawietz, W., Schuckert, G., Lohmüller, R., Zöllner, N.: Erfahrungen mit einer neuen Anästhesie am Miniaturschwein. Zentralbl. Vet. Med. A. 19:214-18, 1972
161. Marx, R.: Arteriosklerose und Thrombozytenaggregation. Münch. Med. Wschr. 119:1413-1414, 1977
162. Massmann, J., Weidenbach, H.: Modulation und Proliferation der Gefäßwandmuskelzelle und ihre Bedeutung für die Atherogenese. Z. Ges. Inn. Med. 33:593-595, 1978

163. Mc Aloon, E.J.: Erythrocytosis associated with carboxyhemoglobinemia in smokers. *South. Med. J.* 73:137-139, 1980
164. Mc Gill, H.C.: The lesion. In: Schettler, G., Weizel, A.: *Atherosclerosis* III:27-38, 1974, Springer Verlag, Berlin
165. Mc Gill, H.C., Frank, M. H., Geer, J.C.: Aortic lesions in hypertensive monkeys. *Arch. Pathol.* 71:96-102, 1961
166. Meesen, H.: Neue Aspekte der morphologischen Arterioskleroserecherche. *Zahnärztl. Mitt.* 64:560-565, 1974
167. Megele, R., Inczédy-Marcsek, M., Lindner, E., Bogusch, G.: Zytologische und zytochemische Darstellungsmethoden für kontraktile Proteine und für Blutplättchen des Menschen im retrahierten Plasmagerinnsel in vitro. *Verh. Anat. Ges.* 72:245-256, 1978
168. Middleton, C.C., Clarkson, T.B., Lofland, H.B., Prichard, R.W.: Atherosclerosis in the squirrel monkey. Naturally occurring lesion in the aorta and coronary arteries. *A.M.A. Arch. Path.* 76:16, 1964
169. Middleton, C.C., Clarkson, T.B., Lofland, H.B., Prichard, R.W.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 120:105, 1965
170. Miller, G.J., Miller, N.: Plasma-high-density-lipoprotein concentration and development of ischaemic heart disease. *Lancet* I:16, 1975

171. Minick, C.R., Fabricant, C.G., Fabricant, J., Li-trenta, M.M.: Atherosclerosis induced by infection with a herpes-virus. *Am. J. Pathol.* 96:673-706, 1979
172. Minick, C.B., Murphy, G.E.: Experimental induction of athero-arteriosclerosis by the synergy of allergic injury to arteries and lipid-rich diet. II. Effect of repeatedly injected foreign protein in rabbits fed a lipid-rich, cholesterol-poor diet. *Amer. J. Pathol.* 73:265, 1973
173. Minick, C.B., Murphy, G.E., Campbell, W.C.: Experimental induction of athero-arteriosclerosis by the synergy of allergic injury to arteries and lipid-rich diet. I. Effect of repeated injections of horse serum in rabbits fed dietary cholesterol supplement. *J. of Exp. Med.* 124:635, 1966
174. Mitchell, J.R.A., Schwartz, C.: *Arterial Disease* Oxford, Blackwell Scientific Publishers Ltd., 1965
175. Moncada, S., Gryglewski, R., Bunting, S., Vane, J.R.: An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature* 263:663-665, 1976
176. Moncada, S., Herman, A.G., Higgs, E.A., Vane, J.R.: Differential formation of prostacyclin (PGX or PGJ_2) by layers of the arterial wall. An explanation for the anti-thrombotic properties of vascular endothelium. *Thromb. Res.* 11:323-344, 1977

177. Moncada, S., Vane, J.R.: Unstable metabolites of arachidonic acid and their role in haemostasis and thrombosis. *Brit. Med. Bull.* 34:129-135, 1978
178. Moore, S.: Endothelial injury and atherosclerosis. *Exp. Mol. Pathol.* 31:182-190, 1979
179. Moore, S., Friedman, R.J., Singal, D.P., Gauldic, J., Blajchman, M.A., Roberts, R.S.: Inhibition of injury induced thromboatherosclerotic lesions by antiplatelet serum in rabbits. *Thromb. Diath. Haemorrh.* 35:70-81, 1976
180. Movat, H.Z., Haust, M.D., More, R.H.: The morphological elements in the early lesions of arteriosclerosis. *Am. J. Path.* 35:93-101, 1959
181. Murchison, L.E., Fyfe, T.: Effects of cigarette smoking on serum-lipids, blood-glucose and platelet adhaesiveness. *Lancet* II:182, 1966
182. Murphy, E.A., Mustard, J.F.: Coagulation tests and platelet economy in atherosclerotic and control subjects. *Circulation* 25:114, 1962
183. Mustard, J.F.: Platelet, thrombosis, and atherosclerosis. *Prog. Biochem. Pharmacol.* 13:344-348, 1977
184. Mustard, J.F., Packham, M.A., Kinlough-Rathbone, R.L.: Platelets and thrombosis in the development of atherosclerosis and its complications. *Adv. Exp. Med. Biol.* 102:7-30, 1978

185. Nachmann, R.L., Weksler, B., Ferris, B.: Increased vascular permeability produced by human platelet granule cationic extract. J. Clin. Invest. 49:274-281, 1970
186. Nam, S.C., Lew, W.M., Jarmolych, T., Lee, K.T., Thomas, W.A.: Rapid production of advanced atherosclerosis in swine by a combination of endothelial injury and cholesterol feeding. Exp. Mol. Pathol. 18:369, 1973
187. Nordøy, A., Svensson, B., Wiebe, D., Hoak, J.C.: Lipoproteins and the inhibitory effect of human endothelial cells on platelet function. Circ. Res. 43:527-534, 1978
188. Nüssel, E., Höpker, W.W.: Rauchen und morphometrische Gefäßbefunde. Ärztl. Prax. 25:3796, 1973
189. Okuno, T.: Smoking and blood changes. JAMA 225:1387-1388, 1973
190. O'Neal, R.M., Still, W.J.S., Hartroft, W.S.: J. Pathol. Bacteriol. 82:183, 1961
191. Opitz, K., Horstmann, M.: Nikotin, Pharmakologie eines abhängigmachenden Stoffes. Dtsch. Ärzteblatt 40:1869-1873, 1981
192. Page, J.H., Brown, H.B.: Circulation 6:681, 1952

193. Parving, H.-H.: The effect of hypoxia and carbon monoxide exposure on plasma volume and capillary permeability to albumin. Scand. J. clin. Lab. Invest. 30:49, 1972
194. Pfaffinger, I., Marshall, M., Hess, H., Staube-sand, J.: Die akute Wirkung von Zigarettenrauch- oder Kohlenmonoxidinhalation auf die Arterienwand beim Miniaturschwein. Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 85:887-890, 1979
195. Pietilä, K., Nikkari, T.: Enhanced growth of smooth muscle cells from atherosclerotic rabbit aortas in culture. Atherosclerosis 36:241-248, 1980
196. Popow, A.W.: Interactions of LDL with glycosamine glycane and foam cells within the atherosclerotic aorta. Dtsch. Z. Verdau. Stoffw. Kr. 39:130-136, 1979
197. Ramstack, J.M.: Shear-induced activation of platelets. J. Biochem. 12:113-125, 1979
198. Regnault, F.: Platelet aggregation inhibition by a endothelial cell factor. Bibl. Anat. 16:226-230, 1977
199. Róka, L.: Physiologische Wechselwirkungen zwischen Gefäßinhalt und Gefäßwand. Dtsch. Med. J. 18:349-355, 1967
200. Ross, R.: Atherosklerose: Die Rolle von Endothel-läsionen, Proliferation glatter Muskelzellen und Blutplättchenfaktoren. Triangle 15:45-51, 1976

201. Ross, R.: Platelets, endothelium, and smooth muscle cells in atherosclerosis. Adv. Exp. Med. Biol. 102:135-141, 1978
202. Ross, R., Glomset, J.A.: The pathogenesis of atherosclerosis. Part I. N. Engl. J. Med. 295:369-377, 1976
203. Ross, R., Glomset, J.A.: The pathogenesis of atherosclerosis. Part II. N. Engl. J. Med. 295:420-425, 1976
204. Ross, R., Glomset, J.A., Kariya, B., Harker, L.: A platelet-dependent serum factor that stimulates the proliferation of arterial smooth muscle cells in vitro. Proc. Nat. Acad. Sci. 71:1207-1210, 1974
205. Rotter, W.: Vorläufer und frühe Stadien der Atherosklerose und ihre Pathogenese. Med. Welt 29:1111-1114, 1978
206. Rowsell, H.C., Downie, H.G., Mustard, J.F.: Can. Med. Ass. J. 83:1175, 1960
207. Rutherford, R.B., Ross, R.: Platelet factors stimulate fibroblastic and smooth muscle cells quiescent in plasma to proliferate. J. Cell. Biol. 69:196-203, 1976
208. Sachs, V.: Eine einfache Methode zur schnellen Bestimmung des Kohlenmonoxidgehalts im Blut. Dräger Hefte 235:5142, 1959

209. Sandritter, W.: Gefäße. In: Histopathologie 6. A.:57-73, 1975, Schattauer Verlag, Stuttgart
210. Sandritter, W.: Gefäße: In: Makropathologie 4. A.:45-54, 1977, Schattauer Verlag, Stuttgart
211. Sarin, Ch. L., Austin, J.C., Nickel, W.O.: Effects of smoking on digital blood-flow velocity. JAMA 229:1327, 1974
212. Scebat, L., Renais, J., Lenegre, J.: Rev. Atherosclerose 3, No.2, 14, 1961
213. Scott, R.F., Daoud, A.S., Florentin, R.A.: Animal models in atherosclerosis. In: Wissler, R.W., Geer, J.C.: The pathogenesis of atherosclerosis, Baltimore, Williams and Wilkins, 1972
214. Seidel, D.: Plasmalipoproteine und Atherosklerose. Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 81:865-868, 1975
215. Seidel, D.: Biochemie und Regulation des Lipid- und Lipoproteinstoffwechsels. Arzt und Auto Nr. 2, 1977
216. Shimamoto, T., Numano, F.: Contraction and relaxation of endothelial cells covering atheroma and their significance. VASA 2:84-95, 1973
217. Shimamoto, T., Sungaga, C.: Contraction of endothelial cells as a key mechanism in atherogenesis. Proc. Jap. Acad. 48:633-699, 1972

218. Siggard-Anderson, J., Petersen, F.B., Hansen Thorsen, I.: Plasma volume and vascular permeability during hypoxia and carbon monoxide exposure. Scand. J. clin. Lab. Invest. 103:39, 1968
219. Silberbauer, K., Schernthaner, G., Sinzinger, H., Piza-Katzer, H., Winter, M.: Decreased vascular prostacyclin in juvenile-onset diabetes. New Engl. J. Med. 300:366, 1979
220. Sinapius, D.: Die Entstehung subendothelialer Lipophagenherde bei Coronarsklerose. Virchows Arch. Abt. A. Path. Anat. 345:169-175, 1968
221. Sinapius, D.: Thrombogenese in Arterien. Med. Welt 27:1225-1227, 1976
222. Sinapius, D.: Häufigkeit und Morphologie atherosklerotischer Frühveränderungen in verschiedenen Gefäßabschnitten. Med. Welt 29:1128-1131, 1978
223. Sinzinger, H., Feigl, W., Oppolzer, R., Leithner, C.: Aktivierete modifizierte glatte Muskelzelle: Morphologie, Metabolismus, Verteilung und Über-gangsformen. Z. Ges. Inn. Med. 33:589-592, 1978
224. Sinzinger, H., Feigl, W., Silberbauer, K.: Prostacyclin generation in atherosclerotic arteries. Lancet II:442-444, 1979
225. Sixma, J.J., Bolhuis, P.A., Sakariassen, K.S.: Thrombogenesis: Interaction of blood components with the vessel wall. Recent Results Cancer Res. 69:111-118, 1979

226. Skold, B.H., Getty, R.: J. Amer. Vet. Med. Ass. 139:655, 1961
227. Smidt, D.: Das Schwein als Versuchstier in der biologisch-medizinischen Forschung. Z. Versuchstierh. 26:272-281, 1966
228. Smith, J.R., Landaw, S.A.: Smoker's polycythemia. N. Engl. J. Med. 298:6-10, 1978
229. Spohr, U., Hengen, N., Harenberg, J., Walter, E., Angustin, J., Comberg, H.U., Mörl, H., Weber, E.: Nikotinwirkungen nach Zigarettenrauchen auf Kreislauf und Stoffwechsel unter Berücksichtigung der Plasmanikotin- und CoHb-Spiegel. Münch. med. Wschr. 122, Suppl. 1:25, 1980
230. Sunder-Plassmann, P.: Durchblutungsstörungen - Grundlagen und Therapie. 2. A.:238-246, 1975, Enke Verlag, Stuttgart.
231. Schaffner, T., Zimmermann, A., Keller, H.U., Locher, G.W., Cottier, H.: Der Einfluß immunologischer Mechanismen auf die Atherogenese. Med. Welt 29:1118-1122, 1978
232. Schettler, G.: Arteriosklerose-Ätiologie, Pathologie, Klinik und Therapie. Thieme-Verlag, Stuttgart, 1961
233. Schettler, G.: Die Ätiologie der Arteriosklerose. Internist 19:611-620, 1978

234. Schievelbein, H.: Nikotin, Pharmakologie und Toxikologie des Tabakrauchs. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1968
235. Schievelbein, H., Londong, V., Londong, W., Grumbach, H., Remplik, V., Schauer, A., Immid H.: Nicotine and arteriosclerosis. Z. klin. Chem. u. klin. Biochem. 8:190, 1970
236. Schmidt-Schönbein, H., Gallasch, G.: Microrheology and protein chemistry of pathological red cell aggregation, studied in vitro. Biorheology 10:213, 1973
237. Schmitz, T., Konrad, R.M., Tarbiat, S.: Zur Technik der Intubationsnarkose bei Läufer Schweinen. Z. Ges. Exp. Med. 138:299-305, 1964
238. Stamler, J.: Bull. N.Y. Acad. Med. 44:1476, 1968
239. Stamler, J., Bekson, D.M., Lindberg, H.A.: Risk factors: Their role in the etiology and pathogenesis of the atherosclerotic disease. Waverly Press, Baltimore, 1973
240. Stamler, J., Pick, R., Katz, L.N.: Circ. Res. 7:398, 1959
241. Stavrou, D., Dahme, E.: Studie zur Atherosklerosegenese beim Hanfordminiaturschwein unter normalen und experimentellen Bedingungen. Atherosclerosis 14:169-180, 1971

242. Still, W.J.S., O'Neal, R.M.: Amer. J. Pathol. 40:21, 1962
243. Taylor, C.B., Cox, G.E., Manulo-Estrella, P., Sauthworth, J.: Atherosclerosis in rhesus monkeys. II. Arterial lesions associated with hypercholesterinemia induced by dietary fat and cholesterol. Arch. Path. 74:16, 1962
244. Taylor, C.B., Manulo-Estrella, P., Cox, G.E. Arch. Pathol. 76:239, 1963
245. Taylor, C.B., Patton, D.E., Cox, G.E.: Atherosclerosis in rhesus monkeys. VI. Fatal myocardial infarction in a monkey fed fat and cholesterol. Arch. Path. 76:66, 1963
246. Tegris, A.S., Earle, F.L., Curtis, J.M.: Normal hematological and biochemical parameters of young miniature swine. In: Swine in biochemical research. Proc. Int. Symp. 575-596, 1965, Richland (USA)
247. Thaller, H.: Untersuchungen am Miniaturschwein zur frühen Pathogenese der Arteriosklerose nach Kohlenmonoxidinhalation. Inaugural-Dissertation in Arbeit
248. Thomas, W.A., Florentin, R.A., Nam, S.Ch., Kim, D.N., Jones, R.M., Lee, K.T.: Arch. Path. 86:621, 1968

249. Thomas, W.A., Scott, R.F., Lee, K.T., Daoud, A.S., Jones, R.M.: In: Comparative Atherosclerosis. Harper and Row, New York, p. 92, 1965
250. Thomsen, H.K.: Carbon monoxide- induced atherosclerosis in primates. Atherosclerosis 20:233, 1974
251. Thureau, K.: Grundlagenforschung. Münch. med. Wschr. 122, Suppl. 1:11, 1980
252. Trenckmann, H.: Grundlagen der Arteriosklerosetherapie. Z. Ges. Inn. Med. 33:625-628, 1978
253. Tschopp, T.B., Baumgartner, H.R.: Physiological experiments in hemostasis and thrombosis. Brit. J. Hematol. 31 (Suppl.):225-229, 1975
254. Tschopp, T.B., Baumgartner, H.R.: Die mögliche Bedeutung der Blutplättchen in der Frühphase der Arteriosklerose. Med. Welt 28:1656-1657, 1977
255. Vesselinovitch, D., Getz, G.S., Hughes, R.H., Wissler, R.W.: Atherosclerosis 20:303, 1974
256. Wacker, I., Huck, W.: Münch. Med. Wschr. 60:2097, 1913
257. Wald, N., Howard, S., Smith, P.G., Kjeldsen, K.: Association between atherosclerotic disease and carboxy-haemoglobin levels in tobacco smokers. Brit. Med. J. 1:761, 1973

258. Wall, R.T., Harker, L.A., Striker, G.E.: Human endothelial cell migration: stimulation by a released platelet factor. *Lab. Invest.* 39:523-529, 1978
259. Wanstrup, J., Kjeldsen, K., Astrup, P.: Acceleration of spontaneous intimal-subintimal changes in rabbit aorta by a prolonged moderate carbon monoxide exposure. *Acta Path. Scand.* 75:353-362, 1969
260. Weiss, L.: Stoffwechsel der Lipide. In: Harper, A.H., Löffler, G., Petrides, P.E., Weiss, L.: *Physiologische Chemie 1.A.*: 321-373, 1975, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York
261. Wells, R.E., Denton, R., Merrill, E.W.: Measurement of viscosity of biological fluids by cone plate viscosimeter. *J. Lab. Clin. Med.* 57:646-655, 1961
262. Wells, R.E., Merrill, E.W.: Influence of flow properties of blood upon viscosity-hematocrit relationships. *J. Clin. Invest.* 41:1591-1598, 1962
263. Werle, E., Schievelbein, H.: Activity of nicotine and inactivity of kallikrein and kallidin in aggregation of blood platelets. *Nature (London)* 207:871, 1965
264. Wesselkin, N.W.: *Arch. Pathol. Anat. Physiol.* 212:225, 1913
265. Wissler, R.W., Frazier, L.E., Hughes, R.H., Rasmussen, R.A.: *Arch. Pathol.* 74:312, 1962

266. Wissler, R.W., Eilert, M.L., Schroeder, M.A., Cohen, L.: Production of lipomatous and atheromatous lesion in the albino rat. A.M.A. Arch. Path. 57:333, 1954
267. Wissler, R.W., Vesselinovitch, D.: Differences between human and animal atherosclerosis. In: Schettler, G., Weizel, A.: Atherosclerosis III, Berlin-Heidelberg-New York, Springer, p. 319-325, 1974
268. Wissler, R.W., Vesselinovitch, D., Hughes, R.H.: A comparison of the aortic atherosclerotic response in the rhesus and stump-tailed monkeys using rations rich in vegetable fat with or without added cholesterol. Am. J. Path. 66:156, 1972
269. Wissler, R.W., Vesselinovitch, D., Hughes, R.H., Turner, D., Frazier, L.E.: Atherosclerosis and blood lipids in rhesus monkeys fed human "table prepared" diets. Circulation 44:2-57, 1971
270. Wong, H.Y.C.: In: Lipids, Lipoproteins, and Drugs, Plenum Press, New York, p. 381, 1975
271. Wynder, E.L.: The less harmful cigarette. "Herz- und Kreislaufkrankheiten", 1. Wissenschaftliches Symposium des Forschungsrates Rauchen und Gesundheit, Hamburg, 12.1., 1978
272. Yu, S.K., Latour, J.G., Marchandise, B., Bois, M.: Shear stress-induced changes in platelet reactivity. Thromb. Haemostas. 40:551-560, 1978

Danksagung

- Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Markward Marshall für die Überlassung des Themas und seine stets geduldige Unterstützung bei allen praktischen und theoretischen Problemen.
- Besonders danke ich auch Frau Ruth Reiser für ihre ständige Mithilfe bei den Operationen, den Untersuchungen im Labor und am Rasterelektronenmikroskop.
- Besonderer Dank gebührt auch Frau Dr. rer. nat. Dr. med. Chr. Roloff für ihre tatkräftige Unterstützung.
- Danken möchte ich auch meinen Mitdoktoranden Hans Thaller, Helmut Oberhofer, Hans Wagner und Josef Frank, der am 15.07.1978 im Wilden Kaiser ums Leben kam.
- Herrn Prof. Dr. med. J. Staubesand danke ich für die transmissionselektronenmikroskopischen Aufnahmen, die einen wesentlichen Teil dieser Arbeit darstellen.
- Herrn Prof. Dr. med. H. Hess danke ich für vielfältige Anregungen.
- Den Herren Prof. Dr. med. N. Zöllner und Prof. Dr. med. G. Fruhmann danke ich für die Möglichkeit, in ihren Kliniken zu arbeiten.

8. LEBENSLAUF

Am 8. Juli 1955 wurde ich in Passau als erstes Kind des Diplom-Ingenieurs Alois Pfaffinger und seiner Ehefrau Brigitte, geb. Malchow, geboren.

Von 1961 bis 1965 besuchte ich die Volksschule St. Nikola und anschließend das Adalbert-Stifter-Gymnasium ebenfalls in Passau, an dem ich am 22.6.1974 das Abitur ablegte.

Seit November 1974 war ich an der Ludwig-Maximilians-Universität in München für das Fach Humanmedizin immatrikuliert. Im August 1976 bestand ich die Ärztliche Vorprüfung, im August 1977 den I. Teil, im August 1979 den II. Teil und im Herbst 1980 den III. Teil der Ärztlichen Prüfung. Die Approbation als Ärztin erhielt ich am 11. November 1980.

Seit dem 9. Juli 1981 bin ich am Institut für Anästhesiologie der Universität München im Klinikum Großhadern als wissenschaftliche Angestellte tätig.

Irmgard Pfaffinger

